
COUNTWAY LIBRARY
HC 1CZ5 $

ARCHIVES INTERNATIONALES

DE

Pharmacodynamie et de Thérapie

PUBLIÉES PAR

J. J. Abel, Baltimore; **S. Arloing**, Lyon; **E. Behring**, Marbourg; **C. Binz**, Bonn; **A. de Bókay**, Budapesth; **Ch. Bouchard**, Paris; **L. Brieger**, Berlin; **V. Cervello**, Palerme; **A. R. Cushny**, Londres; **J. Denys**, Louvain; **P. Ehrlich**, Francfort; **W. Filehne**, Breslau; **Th. R. Fraser**, Edimbourg; **J. Geppert**, Giessen; **P. Giacosa**, Turin; **E. Gley**, Paris; **F. Henrijean**, Liége; **J. F. Heymans**, Gand; **H. Kionka**, Iéna; **R. Kobert**, Rostock; **T. Lauder Brunton**, Londres; **R. Lépine**, Lyon; **O. Liebreich**, Berlin; **K. Morishima**, Kyoto; **R. Paltauf**, Vienne; **J. Pohl**, Prague; **G. Pouchet**, Paris; **E. Roux**, Paris; **H. Tappeiner**, Munich.

VOLUME XVIII, FASCICULE I-II.

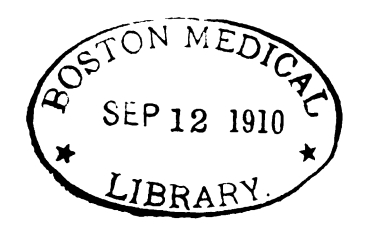


BRUXELLES
H. LAMERTIN, ÉDITEUR,
20, RUE DU MARCHÉ-AU-BOIS.

PARIS
O. DOIN, ÉDITEUR,
8, PLACE DE L'ODÉON.

1908.

Table des matières des volumes antérieurs.



De l'anaphylaxie dans l'intoxication par la cocaïne,

PAR

CHARLES RICHET.

§ I. — Méthode générale.

J'ai essayé de voir sur des chiens quels étaient les effets de l'apomorphine injectée à diverses reprises (1). Il serait en effet très important de vérifier, avec des poisons cristallisables, et de pureté chimique irréprochable, les phénomènes d'anaphylaxie que j'ai démontrés pour des poisons animaux, de pureté toujours problématique, tels que la congestine extraite des actinies ou des moules. Mais l'apomorphine ne m'a donné que des résultats assez médiocres. Aussi ai-je pensé à étudier la cocaïne, d'autant plus qu'ADUCCO avait noté l'action plus intense de la cocaïne quand on en répète l'administration à court intervalle (2). Mais il n'a pas décidé la question de savoir si cette action plus intense dépendait d'une accumulation de la substance toxique dans l'organisme.

Pour cette étude toxicologique j'ai pris la voie péritonéale. Et en effet l'injection d'une solution récemment préparée de chlorhydrate de cocaïne à 1 gr. °/₀ ne provoque jamais d'accidents péritonéaux. On peut graduer la dose injectée avec une très grande précision.

Il s'agissait d'abord de déterminer exactement la dose toxique. Or la cocaïne a cet avantage de permettre l'établissement de deux étapes pour ainsi dire dans la dose toxique; la dose convulsive, et la dose mortelle. Je rappellerai qu'en étudiant l'apomorphine, j'ai pris pour type de son action la dose émétisante, distincte de la dose mortelle, et qu'on peut caractériser avec une extrême précision.

---

(1) *Anaphylaxie par injections d'apomorphine.* Bull. de la Soc. de Biologie, 1905, I, 955.

(2) Arch. it. de Biol., 1894, XX, 32-43.

Mes expériences ont été faites sur des lapins et des cobayes. Les chiffres que je donne se rapportent tous à un kilogr. du poids de l'animal.

Les effets de la cocaïne injectée dans le péritoine sont rapides. Chez le lapin, les convulsions (si elles doivent se produire) se manifestent au plus tard 8 minutes après l'injection. Mais le plus souvent elles éclatent plus tôt : 4 ou 5 ou 6 minutes après que l'injection a été terminée. Dans certains cas même, c'est au bout de 1′ 30″. En général, quand il s'agit de comparer sur des lapins différents l'effet d'une même dose la mort survient dans les cas où les convulsions se sont plus rapidement produites, soit parce que l'absorption du poison par le péritoine a été plus active, et n'a pas permis une graduelle élimination, soit parce que la susceptibilité de l'animal était plus grande.

Jamais je n'ai observé de convulsions chez les lapins qui, au bout de 8 minutes, n'en avaient pas encore présenté.

Ces convulsions, parfois extrêmement violentes, ne se terminent pas toujours par la mort. Au bout de 20 à 35 minutes, peu à peu l'animal reprend son équilibre, et se rétablit complètement. Mais dans d'autres cas, et, bien entendu, selon la dose, il se produit une dernière convulsion très violente ; la respiration ne se fait plus, et l'asphyxie cardiaque entraîne l'arrêt du cœur.

Il est très rare que, lorsque les convulsions ont cessé, l'animal ne se rétablisse pas complètement. Il est plus rare encore (je ne l'ai observé qu'une fois) que le lapin meure dans la nuit qui suit l'injection, sans avoir présenté de crises convulsives.

Chez les cobayes les phénomènes sont les mêmes; mais avec quelques nuances dans le processus toxique. Les convulsions se produisent un peu plus tardivement; en général 7 ou 8 minutes après l'injection. Quelquefois même c'est seulement au bout de 16 minutes qu'il y a de vraies convulsions. Elles sont précédées par un état de réflectivité exagérée qui dure quelques minutes, avant que la crise convulsive, qui met l'animal sur le flanc, et précipite sa respiration, ait nettement apparu.

Les convulsions du cobaye, plus tardivement apparues, sont aussi plus lentes à disparaître. Il faut souvent attendre une heure pour que le cobaye convulsé ait repris son équilibre.

Enfin, plus souvent que chez le lapin, la convulsion se termine par la mort. L'écart entre la dose convulsive et la dose toxique est moindre chez le cobaye que chez le lapin.

Les effets sur la nutrition générale sont très différents. Les lapins supportent très bien l'injection de cocaïne dans le péritoine; ils continuent les jours suivants à manger et à augmenter de poids, tandis que les cobayes dépérissent.

Voici les poids, rapportés au poids initial = 100 de cinq lapins, pesés de 5 jours en 5 jours.

Lapins.

Injection de cocaïne au premier jour.

	N° 1	N° 2	N° 3	N° 4	N° 5	Moyenne.
1er jour	100	100	100	100	100	100
5me jour	126	112	111	104	109	112
10me jour	133	123	118	115	114	121
15me jour	144	135	129	119	121	130
Poids primitif absolu.	720 gr.	880	1135	1635	1335	

Il est vrai que ces lapins n'étaient pas adultes; mais les cobayes ne l'étaient pas non plus.

Cobayes.

Injection de cocaïne au premier jour.

	N° 1	N° 2	N° 3	N° 4	N° 5	Moyenne.
1er jour	100	100	100	100	100	100
5me jour	95	93	98	80	96	92
10me jour	92	93	94	76	90	89
15me jour	82	92	89	72	84	83
Poids primitif absolu.	510 gr.	565	475	720	480	

On remarquera que, même du 10me au 15me jour, la perte de poids s'accentue chez le cobaye, ce qui semble indiquer que les phénomènes d'intoxication sont moins simples qu'on est tenté de le croire, et qu'il se passe sans doute dans l'organisme de profondes modifications dont nous ne pouvons saisir que quelques apparences.

§ II. — Expériences sur les lapins.

Il s'agissait d'abord de déterminer exactement la dose mortelle et la dose convulsivante.

Lapins.

Dose (en gr. par kil.).		Dose (en gr. par kil.).	
0.229	Mort. (1)	0.198	Mort.
0.220	Mort.	0.194	Survie.
0.213	Mort.	0.183	Survie. Convulsions.

(1) Il est inutile de répéter ici que la mort survient toujours dans les convulsions.

Dose (en gr. par kil.).			Dose (en gr. par kil.).		
0.182	Survie.		0.115	Survie.	Convulsions.
0.176	Survie.		0.110	Survie.	
0.170	Mort.		0.109	Survie.	Convulsions.
0.158	Survie.	Convulsions.	0.107	Mort.	
0.141	Survie.		0.105	Survie.	
0.128	Survie.		0.101	Survie.	
0.127	Survie.		0.100	Mort.	
0.123	Survie.	Convulsions.	0.100	Survie.	Convulsions.
0.121	Survie.	Convulsions.	0.087	Survie.	
0.120	Survie.	Convulsions.	0.072	Survie.	
0.120	Survie.		0.060	Survie.	
0.115	Survie.				

Quoique les résultats ne soient pas absolument cohérents (1), on peut cependant en déduire :

1° Qu'au dessous de 0,100 il n'y a ni mort, ni convulsions.

2° Qu'au dessus de 0,200 il y a toujours mort et convulsions.

3° Qu'entre 0,100 et 0,200 il y a, suivant l'*idiosyncrasie* de l'animal, tantôt convulsions et mort, tantôt convulsions et survie, tantôt survie sans convulsions ni mort.

Quelque peu satisfaisante que soit cette notion de l'idiosyncrasie, il faut l'admettre cependant; car c'est l'expression d'un fait : un lapin de 2100 gr. reçoit par kilo 0,100 : il a des convulsions et meurt; un autre lapin de 720 gr. reçoit 0,194 par kilo. Il ne meurt pas, et n'a pas de convulsions. Pourquoi cette divergence entre la dose et les effets?

Si l'on classe les XXII lapins ayant reçu des doses variant entre 0,100 et 0,194 en deux groupes :

α XII de 0,100 à 0,225
β IX de 0,127 à 0,194

On voit que pour le groupe α il y a 8 cas de convulsions, soit 61 %, tandis que dans le groupe β, où les doses étaient plus fortes, il y a 3 cas de convulsions, soit 33 %. N'est-ce pas là un fait paradoxal qui mérite en tout cas d'être mentionné?

Je n'ai signalé ces faits que pour en déduire une conclusion relative à l'étude de l'anaphylaxie. Du moment que la dose convulsivante est variable à ce point, de 1 à 2, chez le lapin, il est préférable, au lieu de

(1) E. Delbosc, dans un travail fait à mon laboratoire, avait trouvé sur le lapin, résultat de XI expériences, que la dose convulsivante était de 0,18 gr. : il a trouvé pour le cobaye (résultat de V expériences) que la dose convulsivante était de 0,07. (*Étude expérimentale et clinique sur la cocaïne.* Trav. du lab. de physiologie de Ch. Richet. 1893, II, p. 538.).

recourir à la méthode statistique, de comparer le même lapin, au point de vue de son aptitude aux convulsions toxiques, à diverses périodes, pour la première, la seconde et la troisième dose de chlorhydrate de cocaïne. Je pourrais en effet donner dans un tableau d'ensemble la mortalité et la *convulsibilité* pour les deuxièmes doses de cocaïne; mais ce tableau brut n'indiquerait que peu de chose.

Je dirai donc seulement :

1° Que pour des doses inférieures à 0,100 il y a eu sur X lapins 2 morts, et 2 convulsions avec survie.

2° Que pour trois doses supérieures à 0,135 il y a eu trois morts.

3° Que de 0,100 à 0,135, sur XVIII expériences, il y a eu 3 morts et 2 convulsions avec survie, ce qui se rapproche beaucoup des lapins normaux.

Mais cela ne permet nullement une conclusion.

Pour étudier plus profondément le phénomène, nous allons séparer les lapins expérimentés en deux groupes: un groupe α, lapins chez qui la première injection a provoqué des convulsions, un groupe β, lapins chez qui la première injection n'a pas provoqué de convulsions. Naturellement il n'est pas question, pour l'anaphylaxie, des lapins qui ont péri lors de la première injection.

Les lapins du groupe α ont été alors soumis à une seconde injection, et voici les résultats de cette seconde injection. Nous ferons la dose primitive = 100.

Groupe α : Lapins ayant eu des convulsions à la 1re injection.

Expériences.	Jours d'intervalle entre la 1re et la 2e injection.	Dose absolue de la 2de injection.	Dose de la 2de injection si la 1re = 100.	
1	2	0 150	122	Convulsions. Mort.
2	11	0 120	65	Convulsions
3	2	0 118	97	Convulsions.
4	8	0 113	94	Rien.
5	4	0 105	89	Convulsions. Mort.
6	14	0 110	91	Convulsions.
7	21	0.100	86	Rien.
8	14	0.100	83	Convulsions. Mort.
9	15	0.100	100	Convulsions. Mort.
10	12	0 094	99	Convulsions.
11	12	0.091	94	Convulsions.
12	14	0 084	77	Convulsions.
13	12	0.081	96	Rien.
14	14	0.080	51	Rien.

On voit d'abord que quatre fois il n'y a pas eu de convulsions à la seconde dose. (Expériences 4, 7, 13, 14.)

Mais dans ces 4 expériences la seconde dose a été plus faible que la première; — soit, si la première = 100, de 51, 86, 94, 96. Donc on ne peut rien en conclure.

Dans quatre cas il y a eu mort à la seconde injection pour les doses suivantes :

Expériences.	Dose de la 2de injection si la 1re = 100.	Jours.
1	122	2
5	89	4
8	83	14
9	100	15

Mais de l'expérience 1 on ne peut rien conclure, puisque la seconde dose était plus forte. Restent donc les 3 expériences (5, 8, 9) qui permettent de supposer qu'il y a eu une légère anaphylaxie.

Dans le groupe β, lapins n'ayant pas eu de convulsions, il est clair que si la seconde injection n'a pas produit plus de convulsions que la première, on ne peut conclure : de sorte que nous n'avons à mentionner ici que les lapins n'ayant rien eu à la première injection, et ayant eu convulsion ou mort à la seconde.

Groupe β : Lapins n'ayant pas eu de convulsions à la première injection et ayant eu convulsions à la seconde.

Expériences.	Jours d'intervalle.	Dose absolue de la 2e injection.	Dose de la 2e injection si la 1re = 100.	
15	2	0.138	109	Convulsions. Mort.
16	2	0.140	106	Convulsions. Mort.
17	8	0 130	67	Convulsions.
18	2	0.120	107	Convulsions.
19	8	0.106	91	Convulsions.
20	10	0.100	100	Convulsions.
21	10	0.098	56	Convulsions.
22	9	0.095	109	Convulsions.
23	9	0.079	109	Convulsions. Mort.

Il faut éliminer de ces expériences celles où la deuxième dose donnée a été supérieure à la première; car alors il n'est pas surprenant que les effets aient été plus intenses. Restent donc en dernière analyse les trois expériences suivantes :

Expériences.	Dose de la 2de injection si la 1re = 100.	Jours d'intervalle.
17	67	8
19	91	8
21	56	10

Finalement nous ne trouvons que six expériences (exp. 5, 8, 9, 17, 19, 21) desquelles on peut conclure qu'il y a une très légère anaphylaxie. En effet la moyenne de la seconde dose pour ces six expériences, si on fait la dose première = 100, est de 80. C'est une bien faible anaphylaxie si on la compare à l'intense anaphylaxie qu'on observe avec la mytilo-congestine ou l'actino-congestine.

Je n'ai que deux expériences faites sur des lapins ayant présenté des convulsions à la première dose; et ayant reçu une seconde dose égale ou plus forte. Or, ces deux lapins sont morts, de sorte qu'il n'y a pas d'expérience contradictoire du phénomène de l'anaphylaxie. La plupart des expériences ne renseignent pas; celles par exemple où il n'y a eu de convulsions ni à la première, ni à la seconde dose. Mais toutes celles qui permettent une conclusion (les six mentionnées plus haut) sont en faveur de l'anaphylaxie.

§ III. — Expériences sur les cobayes.

Voici le tableau général des premières doses :

Dose (en gr. par kil.).			Dose (en gr. par kil.).		
0.128	Mort.		0 083	Rien.	
0.120	Mort.		0 080	Rien.	
0.110	Rien.		0 076	Convulsions.	Survie.
0.100	Mort.		0 075	Rien.	
0.100	Mort.		0 070	Rien.	
0.100	Mort.		0 068	Rien.	
0.095	Mort.		0 068	Rien	
0.094	Convulsions.	Survie.	0 065	Rien.	
0.092	Convulsions.	Survie.	0 060	Convulsions.	Survie.
0.092	Rien.		0 058	Rien.	
0 090	Rien.		0 050	Rien.	
0.087	Rien.		0 045	Rien.	
0.084	Convulsions.	Survie.	0 040	Rien.	

Au point de vue de la mortalité, ces expériences sont très homogènes, puisque au-dessus de 0.095 tous les cobayes, sauf un, sont morts,

et qu'au-dessous de 0.095 tous ont survécu. Quant à la convulsibilité, elle est un peu plus variable.

Mais même les questions qui paraissent les plus simples offrent toujours, quand on veut les examiner de près, des difficultés presque insolubles. Ainsi comment apprécier la dose par rapport au poids, chez un cobaye qui a maigri? On sait que cet amaigrissement ne porte jamais sur le système nerveux, mais seulement sur le tissu adipeux et les muscles. Voici donc un cobaye par exemple qui pèse 435 gr. le 4 juin. On lui injecte, en poids absolu 0,04 gr. de chlorhydrate de cocaïne, soit par kilogr. 0,092. Ce même cobaye pèse le 20 juin 322 gr. On lui injecte la même dose absolue de chlorhydrate de cocaïne, soit 0.04. Cela fait par kilogr. 0.121. Il ne me paraît pas certain que le calcul soit légitime dans ce cas. Pourtant, comme tout autre procédé d'évaluation de la dose serait arbitraire, je rapporterai la dose au poids. Mais il faut bien faire remarquer que la dose rapportée au poids paraît, chez des cobayes qui ont maigri, plus forte qu'elle n'est réellement.

Comme tous les cobayes, *sans une seule exception,* ont baissé de poids après l'injection de la première dose, il s'ensuit que le chiffre donné pour la seconde dose (chiffre qui est rapporté au kilogr. de l'animal) est toujours un peu trop fort.

Cela dit, nous ferons comme pour les lapins deux groupes. Groupe α : cobayes ayant eu convulsions (avec survie) lors de la première injection; groupe β, cobayes n'ayant pas eu de convulsions après la première injection, mais ayant présenté, lors de la seconde, convulsions ou mort.

Groupe α : Cobayes ayant eu des convulsions à la première injection (1).

Expérience.	Jours d'intervalle.	Dose absolue de la 2me injection.	Dose de la 2me inj. si la 1re = 100.	
1	4	0 107	114	Rien.
2	4	0 100	93	Convulsions. Mort.
3	14	0 096	116	Rien.
4	17	0 091	120	Convulsions. Mort.
5	11	0 090	96	Rien.
6	19	0 087	103	Rien.
7	17	0 085	140	Rien.
8	4	0.075	88	Rien.
9	4	0 075	84	Convulsions. Mort.

(1) Le tableau donné plus haut ne les indiquait pas tous; car la *première dose* veut dire en réalité *précédente* dose : or certains cobayes ont reçu successivement de multiples injections.

Six cobayes n'ont donc rien présenté à l'injection seconde, alors qu'ils avaient eu des convulsions à l'injection antécédente, et souvent avec une dose seconde plus forte.

Expériences.	Dose °/o.	Jours d'intervalle.
1	114	4
3	116	14
6	103	19
7	140	17

On pourrait conclure qu'il y a là, au lieu d'anaphylaxie, prophylaxie : mais ce serait bien téméraire, car le calcul du chiffre de la dose est bien trop hypothétique (à cause de l'amaigrissement de l'animal) pour permettre cette conclusion.

En réalité, je donnais presque toujours à ces cobayes la même seconde dose que la première fois; mais, comme le poids des animaux avait notablement changé, il s'ensuit que les chiffres rapportés au kilogramme paraissent variables, alors qu'en réalité dans ces neuf expériences, la seconde dose était égale à la première. Alors on observera que trois fois il y a eu convulsions et mort, et six fois au contraire absence de convulsions, de sorte que, contrairement à ce qui me paraît être chez le lapin, il n'y a pas trace d'anaphylaxie chez le cobaye dans cette série expérimentale.

Groupe β : Cobayes n'ayant pas eu de convulsions à la première injection, et ayant eu convulsions à la seconde.

Expériences.	Jours d'intervalle.	Dose absolue de la 2e injection.	Dose de la 2e inj. si la 1re = 100	
10	16	0.120	108	Convulsions. Mort.
11	2	0 107	112	Convulsions.
12	9	0.105	134	Convulsions. Mort.
13	9	0.100	86	Convulsions. Mort.
14	6	0 100	108	Convulsions. Mort.
15	2	0.091	106	Convulsions. Mort.
16	5	0 090	115	Convulsions.
17	10	0.086	83	Convulsions.
18	5	0 085	109	Convulsions.
19	10	0.084	84	Convulsions. Mort
20	10	0.069	87	Convulsions.

De ces expériences, celles où la dose a été plus forte ne peuvent pas compter. Il ne resterait alors que les expériences 9, 10, 19, 20, dans lesquelles, pour des doses de 86, 83, 84, 87 %, il y aurait eu anaphylaxie.

Mais il serait impardonnable de conclure de ces quatre expériences à l'anaphylaxie, d'autant plus que le chiffre absolu différentiel est extrêmement faible. Comme l'injection est au centième, il s'agit d'une différence répondant à 0,05 c.c. environ, c'est-à-dire d'une erreur impossible à éviter.

Au contraire il me paraît plus logique de conclure que chez le cobaye il n'y a pas anaphylaxie.

Toutefois, les injections répétées intrapéritonéales de cocaïne provoquent un état de dépérissement. Or ce dépérissement est une démonstration nouvelle du fait que les intoxications agissent à longue échéance et prolongent leurs effets, même sans qu'il y ait cet état spécial de sensibilité toxique qui est l'anaphylaxie.

Donc pas d'anaphylaxie chez les cobayes. Au contraire il me paraît *probable* qu'elle existe chez le lapin; mais, malgré six expériences très positives, je n'oserais conclure en toute certitude. En tout cas si l'on peut à la rigueur admettre qu'il s'agit là d'expériences tombant dans la limite des causes d'erreur, on ne peut supposer accumulation de cocaïne dans l'organisme, puisque au bout de 10, 14 et 15 jours, il ne pouvait plus rester trace de cocaïne dans l'organisme.

Assurément il s'agit de nuances, mais quand il faut étudier un phénomène délicat, ce n'est que par les nuances qu'on peut espérer le reconnaître.

En somme après l'intoxication du lapin par la cocaïne, comme après l'intoxication du chien par l'apomorphine, il y a probablement anaphylaxie, probablement il n'y en a pas chez le cobaye. Mais, même sur le lapin, cette anaphylaxie est très faible, et on ne peut la comparer aux phénomènes internes d'anaphylaxie qu'on observe après l'injection de poisons albuminoïdiques non cristallisables, tels que les virus, les congestines et substances toxiques des sérums.

Travail du Laboratoire de Pathologie générale de l'Université de Varsovie.
Directeur : Prof. Dr Nicolas Uschinski.

Sur le rapport de la toxine à l'antitoxine,

PAR

LE Dr MÉD. GEORGES BRUNNER,

Médecin adjoint à l'hôpital du St Esprit,
Chef du Laboratoire central des Hôpitaux de Varsovie.

Behring et Kitasato furent les premiers qui s'occupèrent de la question du rapport de la toxine à l'antitoxine. En se basant sur les recherches de Brieger et Fraenkel qui ont isolé les éléments virulents des cultures de bacilles de la diphtérie et du tétanos, Behring et Kitasato entreprirent toute une série d'expériences ayant pour but l'immunisation de différents animaux contre ces toxines, et ils obtinrent des résultats encourageants.

L'immunisation, disent Behring et Kitasato, consiste dans ce que le serum du sang d'animaux immunisés possède la propriété de rendre inoffensifs les éléments virulents élaborés par les bactéries.

Les résultats obtenus par Behring et Kitasato se résument comme suit :

1º Le sang d'animaux immunisés détruit le virus bactérien;

2º Ces propriétés se montrent aussi dans le sang en dehors de l'organisme et dans le serum de ce sang;

3º Ces propriétés sont si stables qu'elles persistent dans l'organisme d'autres animaux, de sorte que la transfusion soit du sang, soit du serum peut avoir une valeur thérapeutique ;

4º Le sang d'animaux non immunisés ne détruit pas les toxines, et si on leur injecte une certaine quantité de toxine, on la retrouve dans le sang et d'autres liquides de l'organisme même après la mort de l'animal.

Les recherches de Behring et de Kitasato ont été confirmées par

Tizzoni et Cattani, Vaillard et Ehrlich. Ce dernier prouva même par toute une série de recherches sur les toxines végétales, l'abrine et la ricine, que l'immunisation contre ces virus consiste dans l'action neutralisante ou bien destructive du serum sanguin sur la toxine soit dans l'organisme. soit *in vitro*.

Quant à l'action de l'antitoxine sur la toxine, c. à d. le processus chimique qui a lieu si on mélange ces deux corps, Behring ne donne point son avis à ce sujet; il soutient cependant qu'il existe ici une analogie avec l'action des acides sur les bases. Behring, tout en rappelant l'action thérapeutique des bases en cas d'empoisonnement par l'acide chlorhydrique, dit que nous sommes ici en présence d'un fait analogue à celui qui a lieu dans l'action de l'antitoxine du sang d'animaux immunisés sur les toxines. Dans l'un et dans l'autre le virus devient inoffensif *in vitro*. L'auteur croit que le mot « destruction » du virus doit être pris dans le sens habituel et non dans le sens chimique; il est de fait qu'il n'y a point de destruction d'un corps quelconque, le mot dit seulement que l'action du virus est arrêtée et non détruite.

Voici ce que disent à ce sujet Vaillard et Roux : Il faut se demander si le corps antitoxique renfermé dans le serum sanguin forme une combinaison déterminée avec la toxine comme cela a lieu pour l'acide neutralisant la base, ou bien agit-il comme un ferment qui provoque une décomposition encore inconnue de la toxine? Il semble qu'un corps comme l'antitoxine qui agit même à dose faible, ne peut être identifié à autre chose qu'à un ferment, avec lequel elle possède nombre de propriétés communes. En ce moment, disent les auteurs, la question est d'autant plus difficile à résoudre qu'il nous est impossible de poursuivre l'action de la toxine et de l'antitoxine en dehors de l'organisme animal.

Il nous a été impossible de séparer la toxine de l'antitoxine après les avoir mêlées, rien n'y fait, ni la filtration par l'argile, ni la dialyse, ni même la précipitation.

D'ailleurs les propriétés des deux corps se ressemblent et les facteurs physiques et chimiques qui décomposent l'un, détruisent l'autre. Il est donc très difficile de dire si l'animal auquel on a injecté un mélange d'un serum et d'une culture filtrée reste sain parce que le virus n'existe plus dans le liquide en question, ou bien parce que le serum possédant les propriétés immunisantes rend les cellules indifférentes à l'action de la toxine, qui ne peut plus agir en ce moment.

Voulant résoudre cette question, Roux et Vaillard mêlaient la toxine avec des quantités d'antitoxine telles, que comme l'expérience l'a démontré, elles ne suffisaient point à l'immunisation; les animaux ainsi traités restaient malgré cela vivants. Il est donc assez probable que la toxine et l'antitoxine se détruisent mutuellement. L'action du serum sur

la toxine se montre immédiatement et au moment même où les deux corps se rencontrent le virus perd ses propriétés.

Ehrlich et Wassermann démontrent une rapidité identique dans l'action neutralisante du serum après mélange avec le virus *in vitro* et disent que la quantité d'antitoxine nécessaire pour l'immunisation de l'animal (injectée 6 heures avant la toxine), est beaucoup plus grande (13-14 fois) que celle qui neutralise la même quantité de toxine *in vitro*.

Cette opinion ne fut point admise par Buchner, qui en se basant sur toute une série d'expériences, soutient que la toxine et l'antitoxine n'agissent point l'une sur l'autre soit *in vitro*, soit *in vivo;* l'antitoxine possède seulement la propriété de défendre la cellule contre la toxine, c. à d. la propriété d'une prompte immunisation. L'auteur part de l'idée que si la toxine était neutralisée par l'antitoxine, alors un mélange tout à fait indifférent pour une certaine espèce d'animaux, ne devrait point donner de symptômes morbides chez d'autres animaux même plus sensibles. Des expériences faites à cet égard démontrèrent cependant que le mélange de toxine et d'antitoxine du tétanos, indifférent pour la souris, fut toxique pour les cobayes.

Il faut donc admettre suivant Buchner qu'il n'y a point de processus chimiques dans le sens de la neutralisation entre ces deux corps. Roux, qui comme nous l'avons vu penchait du côté de l'opinion de Behring, changea tout à coup sa manière de voir. Dans un travail fait avec Martin et dans son célèbre discours fait au congrès de Budapest, Roux cite toute une série d'expériences avec les toxines diphtéritiques et tétaniques et avec les antitoxines correspondantes, et se déclare partisan de l'opinion de Buchner. « Le mélange de la toxine et de l'antitoxine diphtéritique qui ne provoque point de tuméfaction visible chez le cobaye, produit un fort œdème du tissu sous-cutané chez le lapin et le tue si l'on fait l'injection dans la veine. Le serum antidiphtérique n'est pas antitoxique dans le sens propre du mot, mêlé à la toxine il la laisse sans changement, injecté il agit sur les cellules, les rendant pour ainsi dire insensibles à l'action de la toxine. » La même chose se passe avec la toxine et l'antitoxine du tétanos. Il n'y a rien de plus difficile, dit Roux, que de surprendre le moment même de la neutralisation. Le mélange de 900 parties de toxine avec 1 partie de serum n'est point nuisible si on l'injecte à la dose de 1/2 c.c. 8 fois sur 10; les 2 cobayes qui auront le tétanos sont donc plus sensibles, ce qui démontre que le mélange renferme encore du virus libre.

Si on change de proportion (500 parties de toxine et 1 partie de serum), l'injection de 1/2 c.c. reste sans effet, tandis que 3 c.c. provoquent le tetanos. L'expérience manque de cette précision qui caractérise les expériences chimiques, soit parce que nous ne possédons pas de

réactifs aussi sensibles pour déterminer exactement le point de neutralisation, soit parce que la toxine et l'antitoxine existent librement l'une à côté de l'autre. Les expériences semblent plaider en faveur de cette opinion. Les auteurs injectent à 5 cobayes sains à chacun 1/2 c.c. d'un mélange où se trouvent 900 parties de toxine et 1 partie de serum et une pareille dose à 5 autres cobayes qui ont été immunisés contre le bacille du choléra. Les premiers restent sains, les seconds sont atteints du tétanos. Le tétanos apparaît chez ces animaux alors même que la quantité de toxine dans le mélange est moindre.

Roux injecte aux cobayes 1 c.c. d'un serum très fort, ensuite une dose mortelle de toxine tétanique. Les animaux restent sains dans des conditions habituelles, quelques-uns tombent malades si on leur injecte encore les cultures de quelques bactéries communes, p. ex. bac. Kielensis, bac. coli et autres. La toxine n'était donc point détruite si elle a pu amener le tétanos même au bout de quelques jours chez les cobayes, dont l'immunité fut affaiblie.

Ceci fait penser à Roux, que l'action de l'antitoxine consiste dans l'immunisation des cellules et non dans la neutralisation ou la destruction de la toxine.

Behring en défendant sa manière de voir, dit que le cobaye est beaucoup plus sensible au tétanos que la souris et que dans les expériences de Buchner le mélange indifférent pour les souris pouvait renfermer quelque « excès » de toxine indifférent pour la souris, mais provoquant des symptômes *sui generis* chez les cobayes.

Knorr attire l'attention sur ce fait que le mélange de Buchner n'était point indifférent pour la souris même, car un lot d'animaux en expérience succomba et un lot moindre resta sain. Il n'y a donc rien d'étonnant à ce qu'un mélange neutralisé d'une manière aussi incomplète amène chez les animaux plus sensibles des symptômes morbides. Cette même objection s'adresse d'après Knorr aux expériences de Roux, qui travaillait avec des mélanges de virus et de sérum, qui n'étaient pas indifférents.

Metchnikoff, ce fondateur de la théorie cellulaire de l'immunisation, ne pouvait *ipso facto* partager l'opinion de l'école de Behring. Il dit au Congrès de Budapest que l'action antitoxique des liquides de l'organisme consiste non dans la destruction des toxines, mais dans l'augmentation de la défense cellulaire.

En 1895 parut un travail de Calmette dans lequel l'auteur réunit un grand nombre de matériaux précieux par rapport à la question qui nous occupe. Nous citerons ici quelques-unes de ces expériences. Le sérum antitétanique et antiabrinique neutralise le virus de vipère *in vitro;* le sérum antiabrinique neutralise la toxine diphtéritique et la ricine.

Le sérum sanguin du lapin immunisé contre l'érysipèle est actif *in vitro* à l'égard du virus de vipère. Le sérum sanguin d'animaux immunisés contre le choléra et la rage possède les mêmes qualités. Toutes ces données diminuent la foi dans les propriétés spécifiques des sérums et c'est en se basant sur elles que l'auteur soutient que les sérums antitoxiques ne changent probablement point les toxines avec lesquels ils sont mêlés, mais agissent indépendamment d'eux et d'une manière diamétralement opposé sur l'organisme, de sorte que l'action nocive des toxines ne peut plus apparaître.

Pour résoudre expérimentalement la question du rapport de la toxine à l'antitoxine, CALMETTE procède comme suit : le virus de vipère ne change pas de propriétés si on le chauffe à 68° C., tandis que le sérum est détruit; l'auteur chauffa des mélanges de virus et d'antitoxines indifférents à l'animal, les injecta ensuite aux lapins et vit que ces mélanges devenaient toxiques. La chaleur agit donc sur le mélange comme elle agirait sur le virus et le sérum séparément, on peut donc supposer que le virus mêlé au sérum reste inchangé, qu'il n'y a point de combinaison de ces deux corps, ou bien que cette combinaison, s'il en est une, est bien instable. L'auteur partage l'opinion de ROUX et dit que le sérum agit non sur le virus, mais sur les cellules de l'organisme.

HUEPPE soutient que le sérum préservatif ne neutralise ni ne détruit le virus et que ces deux corps peuvent exister l'un à côté de l'autre. A la spécificité de l'antitoxine ne tient nullement son action.

GAUTIER dit que ce sont uniquement les sérums qui ont une action sur les cellules qui deviennent insensibles à l'égard de la toxine ou bien élaborent des éléments neutralisant cette dernière.

NIKÁNOROFF soumettant le mélange du virus diphtéritique et de l'antitoxine à l'action de l'acétate de cuivre, obtient un précipité qui renferme une certaine quantité de toxine tandis que l'antitoxine reste dans la solution. L'auteur soutient que l'antitoxine ne détruit point le virus *in vitro* et ne forme pas avec lui de combinaison chimique stable, elle est au contraire très instable et peut être décomposée à l'aide de l'azotate de cuivre.

CALMETTE et DÉLÉARDE trouvèrent que l'hypochlorite de chaux et le chlorure d'or détruisent le virus de vipère *in vitro*, l'abrine et la plupart des toxines bactériennes laissent l'antitoxine intacte; si donc on ajoute à un mélange tout à fait indifférent de virus de vipère et d'antitoxine spécifique de l'hypochlorite de chaux, on voit que le virus est complètement détruit et que l'autre toxine reste intacte. De là la conclusion, que dans un mélange de toxine et de sérum antitoxique, la toxine n'est ni détruite, ni transformée par l'antitoxine. Ces corps existent donc l'un à côté de l'autre ou bien ils forment des combinaisons instables qui se dédoublent facilement sous l'influence de la chaleur et des réactifs chimiques.

WASSERMANN qui, comme nous l'avons vu, partageait avec EHRLICH l'opinion de BEHRING, entreprit toute une série d'expériences pour résoudre cette question et fut amené à changer d'avis. L'auteur se persuada que le virus des bacilles de pus bleu ne change point sous l'influence de l'ébullition, que l'antitoxine correspondante se décompose à la température de 100°.

WASSERMAN chauffait un mélange de virus et de sérum indifférent pour des animaux et lui rendait de la sorte ses propriétés virulentes. Ainsi donc le mélange contient deux corps à l'état libre, la toxine est détruite seulement après être introduite dans l'organisme. L'auteur en conclut que l'antitoxine n'agit pas directement sur la toxine, mais que l'antitoxine se transforme dans l'organisme vivant en un corps qui neutralise la toxine au sein de l'économie.

La théorie cellulaire de l'immunité trouve un nouvel appui dans toute une série d'expérience faites par WEHRMANN. Cet auteur démontra que le sérum employé contre le virus de vipère possède des propriétés immunisantes et même antitoxiques à l'égard du sang d'anguille, dans le même sens agit encore le sérum antidiphtéritique; le sérum sanguin du lapin immunisé contre le sérum d'anguille possède des propriétés immunisantes et thérapeutiques à l'égard du virus de vipère, le sérum de ces reptiles et le sérum d'anguille. Ces données qui affaiblissent l'idée de la spécificité des sérums, plaident en faveur de la théorie cellulaire de l'immunité, défendue par l'école française.

Les recherches microscopiques faites par KEMPNER et POLLACK sur le botulisme expérimental, amènent fatalement ces auteurs à la conclusion que le sérum spécifique n'agit pas indirectement sur le virus du botulisme, mais seulement à l'aide de l'organisme vivant. KEMPNER et POLLACK démontrèrent que l'antitoxine spécifique peut défendre les cellules nerveuses contre la dégénérescence provoquée par le botulisme; introduit dans l'organisme 24 heures après l'intoxication, le sérum peut sauver la vie de l'animal, malgré le changement assez notable dans les cellules (on voit au microscope que grâce au sérum la cellule est ramenée à son état antérieur).

MARENGHI démontra dans toute une série d'expériences que le chauffage du sérum antidiphtéritique à 55° et au dessus ne lui enlève guère ses propriétés immunisantes, tandis que les expériences de ROUX et YERSIN répétés par l'auteur, démontrèrent que le chauffage de la toxine à 60° détruit son action toxique.

Il est donc évident que si au moment de l'action du sérum sur la toxine nous avons affaire à un processus chimique, c'est-à-dire à la formation d'un tiers corps indifférent pour l'organisme animal, le mélange indifférent chauffé auquel on a ajouté préalablement une nouvelle portion

de toxine, doit acquérir des propriétés toxiques. Si cependant la toxine et le sérum gardent dans le mélange leurs propriétés, tout change sous l'influence de la chaleur : la toxine sera détruite, tandis que l'antitoxine gardera sa force, ce qui fait que si l'on ajoute une nouvelle quantité de toxine au mélange préalablement chauffé, celui-ci doit rester indifférent, c'est-à-dire inoffensif pour les animaux.

Les expériences avec le chauffage des mélanges jusqu'à 64-72° démontrèrent qu'indépendamment de la quantité de toxine qu'ils renferment cette toxine est détruite tandis que l'antitoxine devenue libre garde sa force, autrement dit, la propriété de neutraliser une nouvelle portion de virus.

Le dédoublement du mélange par la chaleur semble à MARENGHI impossible et il suppose que c'est l'organisme animal seul qui est pour quelque chose dans l'action d'un corps sur l'autre.

Les mêmes expériences ont été faites avec beaucoup plus de précision par DIERZGOWSKI; la toxine diphtéritique de cet auteur perdait sa force après avoir été chauffée à 55° C. pendant 3 heures, tandis que le sérum spécifique ne faiblissait pas dans des conditions identiques. Tout en chauffant les mélanges l'auteur trouva qu'ils continuent à être indifférents; l'antitoxine ne devenait pas libre et une nouvelle quantité de toxine ajoutée n'était point neutralisée. En se basant sur ces expériences, ce savant admet l'action de l'antitoxine sur le virus *in vitro* avec formation d'un corps nouveau.

BOMSTEIN, pour résoudre la question qui nous occupe ici, part de l'idée de BEHRING, qui dit que si une certaine quantité de virus et de sérum mélangés se neutralisent mutuellement, des quantités plus grandes de ces corps doivent former une combinaison indifférente. L'auteur ajoute à 0,5 c.c. de toxine diphtéritique (c'est-à-dire une dose dix fois moindre que la dose minima mortelle pour le cobaye) 0,001 c.c. de sérum. Ce mélange se montre complètement inoffensif pour le cobaye de 280-300 gr. Si cependant on injecte une dose 5, 4, 3, même 2 fois plus grande que la précédente (pour la 1re série) alors tous les cobayes succombent (symptômes habituels à l'infection diphtéritique); voulant voir si ce résultat ne dépend pas de ce que la réaction *in vitro* (éprouvette) demande un certain temps à se produire, l'auteur met le mélange à l'étuve à la température de 22° et 37° pendant 24 heures.

Malgré cela les propriétés toxiques restèrent sans changements. L'auteur arrive à la conclusion qu'une réaction directe entre la toxine et l'antitoxine est invraisemblable en dehors de l'organisme et que l'intervention de l'organisme animal est une *conditio sine qua non* pour que la réaction se produise. BOMSTEIN suppose que l'antitoxine stimule les cellules et les conduit à la formation d'un corps nouveau qui agit ensuite à son tour sur la toxine.

Cobbett et Kanthack s'élèvent contre ces opinions et disent que Bomstein n'avait pas affaire à un mélange complètement indifférent; l'animal peut supporter un excès minime de virus, mais si nous commençons à augmenter la quantité du mélange destiné à être introduit, alors l'excès du virus augmente aussi et aboutit à la constitution d'une dose mortelle.

Enfin après un long silence, Ehrlich se mit à défendre ses anciennes théories. L'auteur convient que la question du rapport de la toxine à l'antitoxine est très difficile à résoudre et en voit la cause dans ce fait que la plupart des expériences ont été faites sur des animaux, ce qui permet d'expliquer les faits d'une manière quelque peu différente. Il serait à désirer qu'on puisse se baser sur les expériences *in vitro*.

L'auteur expérimenta avec une toxine végétale, la ricine, qui ressemble beaucoup aux toxines bactériennes. Comme on le sait (Kobert), la ricine provoque même en dehors de l'organisme la coagulation du sang. Si l'on mélange le sang défibriné et dilué avec une solution de ricine, les globules rouges se mettent en pile, se fusionnent et tombent au fond, laissant le liquide transparent. La rapidité avec laquelle se produit la réaction, dépend de la concentration de la solution de ricine, c'est un phénomène chimique indépendant de la vie, car il se montre même si le sang est saturé de différents sels.

L'expérience du prof. Ehrlich consistait dans ce fait, qu'une certaine solution de ricine était mélangée avec des quantités croissantes d'antiricine, après quoi on ajoutait ces mélanges au sang dilué dans des éprouvettes. Dans quelques éprouvettes les globules rouges se coagulaient, dans d'autres la coagulation était retardée, dans d'autres encore elle n'avait pas lieu.

Dans des expériences faites sur les animaux, ayant pour but la définition de la force de l'antitoxine, on obtenait les mêmes résultats qu'*in vitro* c.-à-.d. que la même quantité d'antiricine qui empêchait la coagulation des globules rouges *in vitro* neutralisait en même temps l'action toxique de la ricine *in vivo*. En se basant sur ces résultats, Ehrlich soutient que la toxine et l'antitoxine agissent l'une sur l'autre indirectement, chimiquement. De pareilles expériences *in vitro* ont été faites par d'autres auteurs. Denys, Van de Velde et Bail avec la leucocydine des cultures de streptocoques et l'antileucocydine, Morgenroth avec la krotine, Ehrlich et Madsen avec la staphylotoxine.

Stephens et Myers trouvèrent que le virus du cobra possède la propriété de dissoudre les globules rouges du sang et que l'antitoxine spécifique empêche cette réaction de se produire; la neutralisation du virus *in vitro* répond exactement à la force neutralisante *in vivo* (chez les cobayes); donc la neutralisation est un acte chimique et non cellulaire.

Camus et Gley et indépendamment d'eux Kossel entreprirent de pareilles expériences avec le sérum sanguin de l'anguille, c'est-à-dire avec l'ichthyotoxine qui possède des propriétés globulicides, et avec le sérum spécifique antitoxique; ces auteurs ont vu que l'antiichthyotoxine neutralise *in vitro* l'action de l'ichthyotoxine sur les globules sanguins d'un lapin normal.

Les expériences de Dungern et Morgenroth avec le labferment et son antitoxine sont très intéressantes. Leur action réciproque *in vitro* prouve l'action spécifique de l'antitoxine sans aucune participation, bien entendu, de l'organisme.

Quant à la manière dont la toxine et l'antitoxine entrent en combinaison, Knorr soutient, après avoir fait toute une série d'expériences, que la toxine et l'antitoxine s'unissent assez lentement et d'autant plus lentement, que les solutions sont moins concentrées; outre la combinaison des deux corps dans des rapports définis, le mélange peut encore renfermer une certaine quantité de toxine sous forme de combinaison double. L'auteur remarquait aussi que les mélanges de toxine et d'antitoxine en solution très concentrée peuvent être indifférents, c'est-à-dire inoffensifs pour l'organisme animal, tandis que les mélanges en solution à faible concentration (les rapports étant les mêmes) peuvent être toxiques. On sait que la toxine s'absorbe beaucoup plus vite que l'antitoxine.

Or, on peut admettre qu'en solution faible la toxine peut pendant un certain temps exister librement à côté de l'antitoxine sans se mélanger avec elle, ce qui fait qu'après injection de pareils mélanges une partie est vite absorbée et amène des changements dans les cellules avant que l'action de l'autre (de l'antitoxine) se manifeste.

Martin et Cherry se servirent, pour élucider la question du rapport de la toxine à l'antitoxine, d'une méthode assez originale. Martin prouva en 1896 qu'on peut, dans une solution renfermant des corps à grandes et à petites molécules, séparer les uns des autres en filtrant la solution sous forte pression à travers une membrane de gélatine. Les corps à grandes molécules ne passent pas dans le filtrat.

En partant de l'idée qu'une molécule d'antitoxine est plus grande qu'une molécule de virus, les auteurs pensaient séparer de la sorte la toxine de l'antitoxine unies dans un mélange, si bien entendu l'un des corps n'agit pas sur l'autre chimiquement. On faisait des expériences avec le virus de vipère et le sérum spécifique. On mélangeait ces corps dans des proportions définies et on les filtrait après un certain temps, puis on les injectait aux animaux en expérience.

Il apparut que, si on mélange les deux corps, il se forme une combinaison intime *in vitro* et que le dédoublement ne peut plus être effectué.

Les dernières expériences faites par Ehrlich et son école, expliquèrent la chose. On démontra que la rapidité avec laquelle a lieu

la réaction entre les toxines et les antitoxines dépend de la saturation, de la température du corps dissolvant et de la composition des sels entrant en combinaison.

En tout cas l'affinité de l'antitoxine pour la toxine est différente pour différents virus. Ainsi par exemple le mélange de la tétanotoxine avec l'antitoxine se forme plus lentement que celui de la toxine diphtéritique ou bien du virus de vipère avec l'antitoxine correspondante. La combinaison des deux antagonistes devient beaucoup plus forte avec le temps. Quant aux rapports quantitatifs, dans lesquels les toxines se combinent avec les antitoxines, EHRLICH a voulu établir une loi de *multiples fixes* exprimant en chiffres que 10 volumes de toxine se combinent avec 10 volumes d'antitoxine, 100 volumes de toxine avec 100 volumes d'antitoxine et ainsi de suite.

On critiqua beaucoup la loi de EHRLICH. BORDET et EISENBERG, DANYSZ, ARRHENIUS et MADSEN soutiennent que dans l'action réciproque des toxines et des antitoxines, il n'y a pas de saturation complète d'une partie des molécules tandis que l'autre reste intacte, mais qu'il arrive, comme cela a lieu dans l'action des acides et des bases, un état d'équilibre dans lequel se trouvent, à côté d'une combinaison saturée indifférente, des molécules libres de toxine et d'antitoxine.

Avant d'aborder l'explication des résultats de nos expériences personnelles, nous voulons mentionner encore deux travaux qui ont trait à cette question. DÖNITZ se demanda si l'on peut obtenir, après l'intoxication de l'animal par quelque toxine, la guérison de l'animal en question en introduisant dans le sang différentes doses d'antitoxines, autrement dit, si l'antitoxine peut, et quand le peut-elle, dédoubler la combinaison des récepteurs cellulaires et de la toxine, c'est à dire produire la lixiviation de la toxine. Les expériences ont démontré que si cette réaction se produit assez facilement avec la tétanotoxine et son antitoxine, il n'en est pas de même pour le virus diphtéritique et son antitoxine, où les résultats sont obtenus avec plus de difficulté.

Ce fait plaide en faveur de l'idée que le virus tétanique possède une affinité plus faible que le virus diphtéritique pour le récepteur cellulaire correspondant.

WASSERMANN et BRUCH cherchèrent si l'on peut dédoubler dans l'organisme vivant les combinaisons de toxines et d'antitoxines produites *in vitro*. Les expériences ont été faites sur des cobayes avec la toxine tétanique et le sérum correspondant. Les auteurs se basaient sur les faits, connus antérieurement, que la toxine tétanique pénètre dans le système nerveux central par les nerfs périphériques, tandis que l'antitoxine est absorbée uniquement par les systèmes sanguin et lymphatique. Si l'on empêche l'absorption de l'antitoxine à l'aide de l'adrénaline, qui, comme

on le sait, amène la contraction des vaisseaux sanguins, on peut changer la rapidité d'absorption des parties constituantes du mélange indifférent (équilibré) de la toxine et de l'antitoxine et contrôler ainsi la force de leur affinité.

Les auteurs injectaient un mélange indifférent T. A. dans la patte postérieure du cobaye où l'on contractait préalablement les vaisseaux à l'aide de l'adrénaline, et l'on vit que si le mélange a été préparé une heure avant l'expérience, les animaux tombaient malades, c'est-à-dire la toxine se séparait de l'antitoxine, tandis qu'après une action réciproque de ces corps pendant 2 heures leur dédoublement *in vitro* n'avait pas lieu. Ces expériences plaident en faveur d'une affinité pas trop forte des deux antagonistes.

Nous nous sommes servis dans le cours de nos expériences de la méthode employée par Decroly (l'auteur l'employait dans un autre but). Cet auteur démontra que si l'on injecte à un lapin la toxine diphtéritique et si on commence immédiatement le lavage du système sanguin de l'animal à l'aide d'une solution physiologique de sel marin et du sang d'un autre lapin, l'animal succombe malgré cela au bout de quelques jours, présentant des symptômes d'intoxication, ce qui prouve que le virus fut absorbé immédiatement après injection et fixé sur les cellules de l'organisme. Si l'on fait la même expérience avec un lapin auquel on a injecté de l'antitoxine diphtéritique, on voit que l'antitoxine est éliminée de l'organisme, car une injection successive d'une dose mortelle de toxine tue l'animal dans un laps de temps déterminé.

Nous nous sommes proposé de résoudre d'une manière quelque peu différente la question qui nous intéresse.

Notre toxine tétanique et l'antitoxine étaient assez faibles.

Les expériences préalables ont fixé la dose à 1/2 c.c. de toxine tétanique; cette dose tuait les lapins de 1000-1500 gr. au bout de 3 × 24 heures; 1/100 c.c. de sérum antitétanique neutralisait complètement la dose susmentionnée de toxine, de sorte que les lapins supportaient parfaitement bien le mélange de 0,5 c.c. Tét. T. + 0,01 c.c. Tét. A.

On saignait à blanc un lapin sain (par la carotide). Le sang ainsi obtenu était immédiatement défibriné (on l'agitait avec du verre pilé), puis chauffé à 38° C. et injecté dans la veine jugulaire du lapin en expérience; à ce dernier on introduisait une canule dans la carotide, par laquelle on faisait couler le sang (chaque fois jusqu'à convulsions), tandis qu'on injectait immédiatement dans la veine une solution physiologique de sel chauffée à 38° C. et du sang défibriné de l'autre lapin sain. On faisait couler le sang de la carotide dans un verre gradué pour pouvoir définir chaque fois la quantité et introduire à sa place autant de liquide dans la veine (solution physiologique ou bien sang).

Ajoutons encore que, pour éviter la dilution du sang, on remplaçait seulement la première portion de sang artériel enlevé par la solution physiologique, les portions suivantes (dans chaque expérience on faisait couler le sang plusieurs fois par portions successives) ont été remplacées par du sang normal. Une fois l'opération finie on pratiquait des ligatures des vaisseaux, on suturait la plaie du cou, laissant l'animal dans une cage pour pouvoir l'observer.

Voici les descriptions de nos expériences :

Expérience I.

Lapine de 1300 gr. Injection dans la veine auriculaire 0,5 c.c. de toxine tétanique. — On saigne l'animal immédiatement, en remplaçant 70 c.c. de sang par 25 c.c. de solution physiologique et 45 de sang défibriné de lapin normal. 30 heures plus tard apparurent les premiers phénomènes d'intoxication. La lapine succomba après 48 heures. Mort précédée de tous les symptômes de tétanos.

Expérience II.

Lapin de 1080 gr. Introduction de 0,01 c.c. d'antitoxine tétanique dans la veine auriculaire, après quoi on commença l'expérience. 75 c.c. de sang furent remplacés par 25 c.c. de solution physiologique et 50 c.c. de sang normal défibriné d'un autre lapin; puis on injecta dans les muscles de la cuisse 0,20 c.c. de toxine tétanique. Les premiers symptômes de la maladie se déclarèrent au bout de 24 h.; la mort par tétanos eut lieu au bout de 36 h.

Expérience III *(analogue à la 2de).*

Lapin de 1215 gr. Introduction de 0,01 c.c. de Tét. A., injection de 65 c.c. de solution physiologique et sang défibriné, puis de 0,5 c.c. Tét. T. Mort après 20 h.

Ces expériences confirment les résultats obtenus par Decroly, et prouvent que la toxine tétanique disparait du sang après injection et reste dans la cellule, tandis que l'antitoxine circule dans le sang et peut être éliminée par le lavage du système sanguin.

Nos expériences nous permettent de résoudre la question théoriquement, il nous est p. ex. impossible de dire si toute la quantité de toxine a été absorbée et si la totalité de l'antitoxine circule dans le sang.

Nous pouvons cependant, grâce aux résultats obtenus, continuer nos expériences successives. Ajoutons que le mélange de 1/2 c.c. Tét. T. + 1/100 c.c. Tét. A. était préparé chaque fois avant l'expérience, de sorte que les deux éléments se trouvaient ensemble pendant 15 à 30 minutes (tout au plus) dans la température de la chambre.

Expérience IV.

Lapin de 1585 gr. Injection dans la veine de l'oreille d'un mélange de 1/2 c.c. Tét. T. + 1/100 c.c. Tét. A, avec une minime quantité de solution physiologique. On commença aussitôt l'expérience, qui consistait dans le lavage du système sanguin. On introduisit

60 c c. de sang d'un autre lapin et 34 c.c. de solution physiologique, à la place de 94 c c. de sang évacué. Le lapin resta sain.

Expérience V.

Lapin de 1725 gr. Injection dans la veine 1/2 c.c. Tét. T. + 1/100 c.c. Tét A. Cinq minutes plus tard on commença le lavage du système sanguin, on introduisit 27 c c. de solution physiologique et 73 de sang défibriné d'un lapin sain, après avoir évacué 100 c.c. de sang au lapin en expérience. L'animal resta sain.

Expérience VI.

Lapin de 1278 gr. Injection de 1/2 c.c. de Tét. T. + 1/100 c.c. de Tét. A. On commença l'expérience 15 minutes plus tard. On injecta 23 c.c de solution physiologique et 62 c.c de sang défibriné. L'animal resta sain.

Ces expériences démontrent d'une manière tout à fait certaine que grâce à une action réciproque de la toxine sur l'antitoxine pendant 15-30 minutes *in vitro,* il se forme une combinaison si stable des deux corps qu'une décomposition dans l'organisme animal ne peut plus avoir lieu. Ces expériences plaident d'une part contre les opinions des auteurs qui soutiennent que la toxine n'est pas neutralisée par l'antitoxine et que le mélange n'est pas nuisible grâce à l'action de l'antitoxine sur les cellules; d'autre part ces expériences s'opposent à la théorie de WASSERMANN et BRUCH qui croient à la possibilité d'une division *in vivo* d'un mélange qui a été tenu *in vitro* moins de 2 heures.

Nous sommes d'avis que ce mélange aussitôt préparé devient très stable, de sorte que son séjour dans l'organisme pendant 1—5 et 15 minutes n'est pas capable de provoquer le dédoublement.

L'affinité de la toxine pour les cellules de l'organisme, en comparaison de son affinité pour l'antitoxine, est aussi à remarquer.

Cette question peut encore être élucidée par deux expériences que voici :

Expérience VII.

Lapin de 1925 gr. Injection dans la veine de l'oreille droite de 1/2 c.c. Tét T., 5 minutes plus tard injection dans la veine du côté opposé de 1/100 c.c. Tét. A. Après 5 minutes on commença à laver le système sanguin. On introduisit 30 c.c. de solution physiologique et 70 c.c. de sang défibriné d'un autre lapin sain, à la place de 70 c.c. de sang évacués chez l'animal en expérience.

Les symptômes de tétanos apparurent au 3me jour; la mort eu lieu au 6me.

Expérience VIII.

Lapin de 1522 gr. Injection de 1/2 c.c. Tét. T. dans la veine de l'oreille droite, 5 minutes plus tard dans l'oreille gauche 1/100 c.c. Tét. A., 15 minutes plus tard, on saignait l'animal, après avoir évacué 93 c.c. de sang. On injecta 23 c.c. de solution physiologique et 70 c.c. de sang défibriné. On constata le lendemain une rigidité de la colonne vertébrale. Mort au bout de 4 jours, tous les symptômes du tétanos.

Ces expériences confirment les résultats obtenus par Dönitz et prouvent qu'un contact durant 5 minutes du virus tétanique avec les cellules de l'organisme forme une combinaison intime, qu'une action successive de l'antitoxine pendant 5 et 15 minutes n'est plus capable de dédoubler. Ces expériences ne contredisent nullement celles dont nous parlons plus haut, nous sommes uniquement obligés d'admettre que l'affinité de la toxine pour les récepteurs de la cellule et pour l'antitoxine est d'une force égale et que cette combinaison devient de plus en plus forte à partir de sa formation.

Il est évident que le dédoublement devient impossible dans ces conditions.

Dans nos dernières expériences il aurait été sans doute possible d'extraire la toxine des cellules, uniquement dans ce cas si nous avions agi avec une quantité non égale mais beaucoup plus grande (plusieurs fois) d'antitoxine.

Mai 1907.

Aus dem pharmakologischen Institute München,
Dir. : Prof. Dr von Tappeiner.

Ueber die Wirkung des Kreosots auf den Darm,

von

Dr K. KASAI,
Kaiserl. japan. Oberstabsarzt.

Das 1830 von Reichenbach aus dem Buchenholzteer isolierte *Kreosot* wird in der Theraphie vielfach verwendet, *äusserlich* vor allem als Antiseptikum, *innerlich* besonders gegen Lungenphthise. Auch bei Magen- und Darmerkrankungen wird Kreosot als antiseptisches Mittel verordnet. (1)

Neu dürfte aber die Verwendung von *Kreosot als Prophylaktikum gegen Infektionen* sein.

Im russisch-japanischen Kriege in der Mandschurei erhielt jeder Soldat (Offizier wie Mannschaft) nach jeder Mahlzeit 0,1 gr. Kreosot in Pillenform als Prophylaxe vor allem gegen Typhus abdominalis, Cholera asiatica und Dysenterie(2)). Die Gesamtmenge des aufgenommenen Kreosots betrug für jeden Mann 0,3 gr. Da ich während des ganzen Krieges im grossen Generalstabe beschäftigt war, konnte ich aus den von den verschiedensten Seiten eingelaufenen Berichten mir ein Urteil über diese Darreichung machen.

Sie erschien als durchaus berechtigt, zumal die Leute das Kreosot meist gut vertrugen, allerdings klagten einige Procente der Soldaten über Erbrechen, Kolikschmerzen und Diarrhoen, sodass bei ihnen das Kreosot zeitweise ausgesetzt werden musste. *Allgemein aber war die durch diese Medikation eintretende Regelung des Stuhles.* Das Auftreten von Diarrhoen nach Kreosot ist bekannt(3), und wird als direkte Reizwirkung erklärt.

---

(1) Kobert : Pharmakotherapie. Auflage I [1897], p. 209.

(2) Diese Massnahme basierte auf Untersuchungen Totsuka's, kais. Japan. Generaloberarzt. Dieselben ergaben die sehr interessante Tatsache, dass der aus dem Menschendarme isolierte und cultivierte Bac. coli gleichzeitig mit Typhus- oder Cholerabacillen auf Nahrböden ausgesäht auf die pathogenen Bakterien ohne Einfluss ist. Wird aber vor der Entnahme des Bac. coli eine Woche lang 0,3 gr. Kreosot pro die innerlich verfüttert, so überwuchert der nach dieser Zeit isolierte Bac. coli die anderen pathogenen Bakterien und drängt sie in ihrem Wachstum bedeutend zurück.

(3) Lewin : *Nebenwirkungen der Arzneimittel.* Auflage II, p. 601. — Nothnagel : Spezielle Pathologie u. Therapie Auflage II, p. 1022.

Nähere Untersuchungen hierüber scheinen zu fehlen und ich habe deshalb versucht diese Wirkungen auf den Darmkanal experimentell zu ergründen.

Als Versuchsanordnung wählte ich die *Ocularinspection der Bewegungen und des Aussehens des Darmtraktus;* und zwar geschah dies nach dem Vorgange von SANDERS EZN und van BRAAM HOUCKGEEST so, dass ein Thier, nachdem es narkotisiert war und ihm in der Linea alba die Bauchhöhle geöffnet war, in eine auf 38° erwärmte physiologische Kochsalzlösung gebracht wurde.

Dieselbe befand sich in einem 17 cm. breiten und 29 cm. tiefen Kasten aus Glas. Das Wasser reichte dem Tiere bis zum Halse. Durch einen Thermostaten wurde die Temperatur konstant gehalten. Das Versuchstier musste vor dem Versuche 2 Tage lang hungern, eine Massnahme, die nötig ist um den Darm vor der Injektion im Ruhezustande zu beobachten. Als Narkotikum wählte ich Urethan, das in 5 % Lösung direkt in die freigelegte und mit einer Kanüle versehene Vena jugularis externa injiciert wurde.

Zweckmässiger wäre es vielleicht gewesen, die vor allem von KOBERT empfohlene Methode anzuwenden, bei welcher das operierte Tier in einen Wärmekasten gebracht wird, dessen mit Wasserdampf gesättigte Luft die Körpertemperatur hat und dessen Deckel zur Beobachtung aus Glas besteht. Es soll hiedurch die Darmwandung sich weniger verändern. (1)

Da mir ein solcher Kasten im pharmakologischen Institute München nicht zur Verfügung stand, wählte ich die erstbeschriebene Methode.

Experimenteller Teil.

Vor allem war nachzusehen, ob durch Eingabe von Kreosot im Darme sichtbare Erscheinungen auftreten, wie zum Beispiel erhöhte Peristaltik, Hyperaemie, etc.

Zu diesem Zwecke wurden einem Kaninchen im Bade ***in eine herabhängende Darmschlinge,*** die sich bei der späteren Sektion als zum oberen Teile des Jejunums gehörig erwies, 10 ccm. einer 0,6 % Lösung von Kreosot in physiologischer Kochsalzlösung eingespritzt. An der Injektionsstelle trat sofort eine ringförmige Einschnürung auf, bedingt durch den Einstich, während die gefüllte Darmschlinge in Ruhe blieb. Nach 13 Minuten traten schwache wurmförmige Bewegungen auf in dem Abschnitte, in dem sich die Lösung befand. Aus dem sich gleichbleibenden Füllungsgrade der Schlinge konnte wohl geschlossen werden, dass die Kreosotlösung lange an Ort und Stelle verblieb.

(1) Vergleiche I. POHL : Archiv f. exp. Path. u. Pharmak. Bd. 34, p. 88.

Es ging auch die Darmbewegung auf keine weiteren Darmabschnitte über. Nach circa 20 Minuten hörten die Bewegungen auf und es ging die Füllung der Schlinge allmählig zurück.

Zur Kontrolle wurden in eine andere benachbarte herabhängende Schlinge 10 ccm. einer 0,8 % Kochsalzlösung injicirt. Auch hiebei trat der Kontraktionsring an der Injektionsstelle auf, ausserdem auch eine, sogar noch stärkere Peristaltik der injicirten Schlinge, die aber bereits nach 5 Minuten aufhörte.

Nachdem somit eine, wenn auch schwache örtliche Wirkung des Kreosots auf den Darm sich ergeben hatte, versuchte ich zu erfahren, ob diese Wirkung auch bei intravenöser Injektion sich einstellt.

Zu diesem Zwecke injicirte ich eine ebensolche Lösung in die Vena jugularis. Zu meiner Ueberraschung trat hiebei *schon durch eine weit geringere Kreosotmenge eine äusserst lebhafte Peristaltik ein,* die aber nicht lange anhielt, jedoch — einmal begonnen — nach Wiederholung der Injektion sehr rasch wieder einsetzte. Diese Peristaltik aber zeigte sich nicht am ganzen Darme, sondern *nur am oberen Teile des Jejunums.* Dass diese Beschränkung der Wirkung auf den genannten Darmabschnitt keine zufällige Erscheinung war, zeigte eine am Schlusse des Versuches gemachte Pilocarpininjektion, wodurch sofort lebhafte allgemeine Peristaltik eintrat. Durch das rasche Einsetzen der Wirkung nach der intravenösen Injektion dürfte es sich um eine resorptive Erscheinung handeln, wenngleich die Möglichkeit nicht auszuschliessen ist, dass das Kreosot sehr rasch auf der Darmschleimhaut ausgeschieden wird und somit eine indirekte örtliche Wirkung vorliegt.

Nach Analogie mit Kresol erscheint dies aber als nicht sehr wahrscheinlich. F. Blumenthal (1) wies zwar das rasche Verschwinden des Kresols aus der Blutbahn nach, zugleich aber auch die rasche Entgiftung dieses Körpers in den Geweben, besonders in der Leber. Dieselbe vollzieht sich im Wesentlichen durch Bindung des Kresols zur Kresolglykuronsäure, welche mit der Galle in den Darm ausgeschieden wird. Bei reicher Kresoldarreichung (wie bei Vergiftungen) ist die Entgiftung nicht vollständig und es tritt neben der Kresolglykuronsäure auch freies Kresol durch die Galle in den Darm über. (2). Diese Vermutung, dass es sich um eine indirekte örtliche Wirkung handeln könne, verliert aber durch zwei Beobachtungen an Wahrscheinlichkeit. Erstens ist — wie erwähnt — die Wirkung bei intravenöser Injektion viel intensiver als bei örtlicher Applikation und zweitens ruft, wenn die Peristaltik einmal eingetreten war, eine nach eingetretener Ruhe wiederholte Injektion *sofort* lebhafte Peristaltik hervor.

(1) F. Blumenthal: Biochem. Zeitsch. 1, 135, 1906.

(2) Wandel: Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 56, 161, 1907. Ferner dasselbe: 56, 0, 1907.

ersuch 1.

Männliches Kaninchen. Gewicht 2350 gr. Injektion von Kreosot (0,6 p. c Lösung in physiologischer Kochsalzlösung) teils direkt in den Darm mittels scharfer Einstichkanüle, teils intravenös in die Vena jugularis. Urethannarkose.

3 h.	Injektion von 10 ccm. Kreosot in eine herabhängende Jejunumschlinge.	
3 h. 13'		Die ersten schwachen peristaltischen Bewegungen, beschränkt auf die Kreosotschlinge.
3 h. 17'		Peristaltik sehr schwach.
3 h. 20'		Aufhören der Bewegungen
3 h. 21'	Injektion von 10 ccm. 0,85 p.c. ClNa-Lösung in eine andere . herabhängende Jejunum schlinge.	Schon nach einer Minute Peristaltik an der injicirten Schlinge, die aber nach 5 Minuten vollständig verschwindet.
3 h. 40'	Injektion von 8 ccm. Kreosot in die Vene.	
3 h. 48'	Beendigung der Injektion.	Auftreten von periodisch wiederkehrenden Kontraktionen im Jejunum.
4 h. 10'		Die peristaltischen Bewegungen werden schwächer.
4 h. 12'	4 ccm. Kreosot intravenös.	Starke Peristaltik während der Injektion, die aber bald schwächer wird.
4 h. 30'	10 ccm. » »	Wiederum starke Peristaltik, die nach 25 Minuten schwächer wird. Es treten Ruhepausen von câ 1 Minute ein. Nach 55 Minuten Stillstand.
5 h. 25'	1 ccm. » »	Sofortiges Auftreten von Peristaltik.

Versuch 2.

Männliches Kaninchen. Gewicht 2250 gr. Intravenöse Injektion von 0.6 p. c. Kreosot in die Vena jugularis. Urethannarkose.

3 h. 50'	Injektion von 9 ccm.	Keine Bewegungen.
4 h. 15'	» » 11 »	Nach der Injektion peristaltische Bewegungen im oberen Abschnitt des Jejunums, die nach 5 Minuten aufhören.
4 h. 25'	» » 5 »	Während der Injektion Auftreten von Peristaltik, die 20 Minuten anhält.
4 h. 50'	» » 4 »	Peristaltik. Zugleich wird Atmung vorübergehend ungenügend.
4 h. 55'	» » 8 »	Starke Peristaltik, aber nur in der Jejunumschlinge wie bisher.

Somit war durch mehrere Versuche der Eintritt peristaltischer Bewegungen des Jejunums nach intravenöser Injektion von Kreosot sicher gestellt. Es erhob sich nun die Frage, wodurch diese Darmerscheinungen bedingt sind. Es könnte sich hiebei um nervöse Einflüsse handeln : Von den Nerven, die dem Darme, insbesondere dem Dünndarm, motorische Fasern zuführen, käme vor allem der Nervus vagus in Betracht. Aber auch die Nervi splanchnici enthalten motorische Fasern (1). Ferner kämen von Bewegungscentren in Betracht : einige Centren im Grosshirn (vor allem im Gyrus sigmoideus und im Sehhügel) und der AUERBACH'sche und MEISNER'sche Plexus. Auch eine direkte Einwirkung auf die Darmmuskulatur könnte hierbei vorliegen. Ferner ist die Möglichkeit nicht auszuschliessen, dass es sich um eine Lähmung von Hemmungscentren, deren wichtigstes im nervösen Apparat der Nebennieren liegt (2), oder von Hemmungsfasern handeln kann. Diese Möglichkeit ist vor allem deshalb in's Auge zu fassen, da die vorliegenden Versuche an hungernden Kaninchen gemacht waren. Nach Versuchen von JACOBY ist durch Hunger ein Reizzustand der Nebennierenhemmungscentren geschaffen. Würde Kreosot diese Centren lähmen, so könnte hiedurch Peristaltik auftreten. Wahrscheinlich aber ist es nicht, da nur Jejunumschlingen in Bewegung geraten.

Würde es sich um eine Erregung motorischer, in der Darmwand gelegenen Nervenelemente handeln, so müsste nach vorausgehender *Atropin-Injektion*, welches in grösserer Dosis letztere lähmt, die Kreosotwirkung ausbleiben.

Ich machte einige Versuche in dieser Richtung. In einem Versuche kam es bei den Atropininjektion infolge direkten Reizes des Atropins auf die Darmmuskulatur zu lebhafter Peristaltik. Diese direkte Reizung der Darmmuskulatur durch Atropin ist bekannt. Nachdem der Darm wieder zur Ruhe kam, wurde *Kreosot* gegeben *mit dem gleichen Erfolge wie vor der Atropininjektion*. Durch eine der Kreosotinjektion folgenden Pilocarpininjektion überzeugte ich mich davon, dass das Atropin die gewünschte Wirkung hatte. Denn eine am Schlusse der Versuche gemachte Pilocarpininjektion löste keine Peristaltik aus.

(1) I. PAL : Arch. d. Verdauungskrankheiten, Bd. V, Heft. 3.
(2) JACOBY : Arch. f. exp. Path. u. Pharmak., B. XXIX, p. 171,

Versuch 3

Männliches Kaninchen. Gewicht 2400 gr. Injektion von 0,6 p. c. Kreosot in die Vena jugularis. Ebenso Injektion von 0,4 p. c. Atropinum sulfuricum. Urethannarkose.

4 h.	Injektion von 16 ccm. Kreosot.	Nach 11 ccm. erstes Auftreten von Peristaltik im oberen Jejunum Die Peristaltik ist nach der Gesamtinjektion sehr stark, wird nach 3 Minuten geringer u. verschwindet nach ca 20 Minuten.
4 h. 30	Injektion von 5 ccm. Atropin.	Setzt Peristaltik an allen Darmabschnitten ein, die über eine halbe Stunde anhalt.
5 h. 15'		Stillstand des ganzen Darmes.
	5 ccm. Kreosot.	Lebhafte Peristaltik die besonders in den Jejunumschlingen lange anhielt.
5 h. 45'	Injektion von 5 ccm. einer 0,5 p. c. Pilocarpinlosung.	Keine Peristaltik.

Versuch 4

Männliches Kaninchen. Injektion von 0,6 p. c. Kreosot in die Vena jugularis. Ebenso Injektion von 0,4 p. c. Atropinum sulfuricum. Urethannarkose.

3 h. 50'	Injektion von 10 ccm. Kreosot.	Schwache Peristaltik.
4 h.	» » 10 » »	Die Peristaltik wird nicht wesentlich stärker.
4 h. 15'	» » 11,7 » »	Ohne dass die peristaltische Bewegung zunahm, wird die Atmung ungenügend u. das Tier zyanotisch. Beides verschwand bald wieder.
4 h. 35'		Keine Peristaltik mehr.
4 h. 38'	» » 5 » Atropin.	Auftreten starker Peristaltik, die lange anhielt. Atmung frequent. Anzeichen von Krampfen.
5 h. 20'		Nur mehr äusserst schwache peristaltische Bewegungen.
5 h. 24'	» » 6 » Kreosot.	Starke Peristaltik.

Nachdem somit das Atropin die Darmerscheinungen unbeeinflusst liess, wurde versucht, *ob nicht durch Morphin der Eintritt der Peristaltik aufzuheben sei.* Morphin soll ein lokal bewegungshemmendes Mittel sein. JACOBY nimmt an « dass es sich um eine lokale Hemmungswirkung auf in der Darmwand gelegene Apparate handelt, infolge deren die Reize, welche sonst Bewegungen auszulösen im Stande sind, wirkungslos werden ». (1)

(1) JACOBY : Arch. f. exp. Path. u. Pharmak. Bd XXIX, p. 208.

Würde es sich beim Kreosot um eine lokale Erregung handeln — wie z. B. durch Ausscheidung der injizierten Kreosots auf die Darmschleimhaut (ähnlich dem Blei) — so dürfte gemäss obiger Annahme nach der Morphin-Injektion die Kreosotwirkung nicht mehr auftreten.

Aber auch das Morphin hemmte die Erscheinungen der Kreosot-Darreichung nicht.

Zugleich sollte in diesem Versuch entschieden werden, *an welchen Bestandteil des Kreosots die Wirkung geknüpft is.*

Kreosot besteht hauptsächlich aus *Guajakol* (Monomethylaether des Brenzcatechins) und *Kreosol* (Methylguajakol). Beide Bestandteile *wirken wie das Kreosot.*

Vor allem ist dieser Versuch dadurch interessant, dass sich ergab, dass ebenso wie die Peristaltik im Jejunum *starke Kontraktionen des Uterus* auftraten. Es scheint dies dafür zu sprechen, dass es sich bei der Kreosotwirkung nicht um eine Beeinflussung nervöser Apparate, sondern um eine *Wirkung auf die Muskulatur* handelt.

Dass gerade die Muskulatur des Jejunums erregt wird, ist auffallend. Es zeigt aber der Kaninchendarm gegen Elektrizität ein analoges Verhalten. Die Erregbarkeit nimmt konstant ab vom Duodenum zum Jejunum zum Ileum, während Coecum und Rectum sehr wenig erregbar sind. (1)

Versuch 5.

Weibliches Kaninchen, 2780 gr. schwer. Injection von 0,6 p. c. Kreosot resp. Guajukol in die Vena jugularis. Ebenso Injektion von 1 p. c. Morphinum hydrochloricum.

3 h. 40'	Injektion von 4 ccm. Kreosot.	Auftreten peristaltischer Bewegung im oberen Teil des Jejunums und von Kontraktionen des Uterus. Beide Erscheinungen sind stark ausgebildet u. halten fast eine Stunde an.
4 h. 45'	» » 2,6 » Guajakol.	Auftreten von Peristaltik vor allem im oberen Teil des Jejunums, aber auch in anderen Darmabschnitten. Uteruskontraktionen. Nach ungefähr 50 Min. Aufhören obiger Erscheinungen.
5 h. 50'	» » 1,5 » Morphin.	
5 h. 55'	» » 10,5 » Guajakol.	Periodische Zusammenziehung im oberen Teil des Jejunums, die aber nur schwach sind und sich nicht verstärken, während nach Pilocarpinjektion starke Peristaltik des ganzen Darmes auftrat.

(1) E. Schillbach : Virch. Arch., Bd. 109, p. 278.

Ein weiterer Morphinversuch, bei dem die Kreosotwirkung ganz unbeeinflusst blieb, folgt später (Versuch 8).

Die Beeinflussung der Atmung durch das Kreosot legte den Gedanken nahe, dass es sich bei der Darmwirkung um keine eigentliche Kreosotwirkung, sondern um eine Wirkung von Kohlensäure handeln könne, die durch die Störung der Respiration sich im Blute und in den Geweben anhäuft und zentrale Reizung sowie vor allem Reizung des AUERBACH'schen und MEISNER'schen Plexus hervorruft.

Es wurde deshalb bei einem Tiere statt Urethan Curare subkutan injiciert und dasselbe, nachdem die Lähmung der motorischen Endplatten eingetreten war, künstlich mittels Blasebalg respiriert. Eine Aenderung in der Kreosotwirkung trat hiebei nicht auf. Im Gegenteile waren die Bewegungen des Jejunums, sowie die Kontraktionen des Uterus bei diesen Versuche sehr gut ausgebildet.

Versuch 6.

Weibliches Kaninchen. Gewicht 2900 gr. Injektion von Curare subkutan, von 0,6 p. c. Kreosot in die Vena jugularis. Das Tier war tracheotomiert und mittels Blasebalg künstlich respiriert.

3 h. 10'	Injektion von Curare.	Es folgt bald die Lähmung. Künstliche Respiration.
3 h. 30'	» » 3 ccm. Kreosot.	Nach 3 Minuten Auftreten periodischer Uteruskontraktionen.
3 h. 38'	» » 17 » »	Peristaltik in den oberen Jejunumschlingen. Die Uteruskontraktionen finden in Intervallen von 15''—25''—30'' statt. Die Darmperistaltik tritt auch in den unteren Schlingen auf.
4 h. 40'		Erst jetzt verschwinden die Uterusbewegungen allmählig, ebenso die Peristaltik.
5 h. 55'		Vollständiger Stillstand des Darmes und Uterus.
5 h 56'	» » 9,5 » »	Nach 3 Minuten wieder Auftreten der Peristaltik im Jejunum.
6 h. 2'	» » 6,5 » »	Starke Peristaltik u. Uteruskontraktionen.

Durch Kohlensäureanhäufung infolge Störung der Respiration kann somit die Kreosotwirkung nicht erklärt werden. Es könnte sich aber auch noch darum handeln, dass Störungen in der Zirkulation das primäre sind und es wurde desshalb der obige Versuch wiederholt, mit der Massnahme, dass der Blutdruck während des Versuches von der Carotis externa aus mittels Quecksilbermanometer gemessen wurde. Es zeigte sich bei jeder

Injektion ein geringes Ansteigen des Blutdruckes, wobei gleichzeitig mit der Blutdruckerhöhung die Kontraktionen im Jejunum einsetzten und mit dem Abfall desselben allmählig zurückgingen.

Somit dürfte eine direkte Kreosotwirkung vorliegen. Wenn auch Blutdruck und Peristaltik gleichzeitig sich ändern, so scheinen doch beide Wirkungen in keinem ursächlichen Zusammenhange zu stehen. Dafür spricht Versuch 8, bei dem Morphin injiciert war, um einen früheren Versuch zu bestätigen. Hiebei fiel nach der Morphininjektion der Blutdruck zur ursprünglichen Höhe ab, während die Peristaltik nicht verschwand. Sonst ergibt dieser 8 Versuch nichts wesentlich neues.

Erwähnen möchte ich noch, dass Veränderungen im Blute nicht nachweisbar waren. Es fand sich kein freies Hämoglobin noch irgend eine Gestaltveränderung der roten Blutkörperchen. Auch die sorgfältig ausgeführten Sektionen lieferten keinerlei pathologischen Befunde.

Versuch 7.

Männliches Kaninchen. Gewicht 2000 gr. Injektion von Curare und künstliche Beatmung mittels Blasebalg. Von der Carotis externa aus wird Quecksilbermanometer und schwimmender Feder der Blutdruck aufgezeichnet. Injektion von 0,6 p. c. Kreosot.

11 h. 20'	Subkutane Injektion v. Curare	Künstliche Atmung. Blutdruck 44 mm. Hg.
11 h. 35'	Injektion v. 17,4 ccm. Kreosot	Allmähliges Ansteigen des Blutdruckes auf 82 mm. Hg. Peristaltik im oberen Teile des Jejunums gut ausgebildet.
11 h. 54'		Der Blutdruck fällt allmählig wieder zur Norm. (56 mm. Hg.). Die peristaltischen Bewegungen erlöschen.
11 h. 55'	» 13,1 » »	Dieselben Erscheinungen wie vorher : Ansteigen des Blutdruckes und Einsetzen peristaltischer Bewegungen, aber nur im oberen Abschnitte des Jejunums.

Versuch 8.

Weibliches Kaninchen, 2700 gr. schwer. Injektion von Curare und künstliche Beatmung. Injektion von 0,6 p. c. Guajakol und 1,0 p. c. Morphinum hydrochloricum intravenos.

3 h. 10'	Injektion von 2 ccm. Guajakol direkt in eine herabhängende Jejunumschlinge.	Einschnürung an der Einstichstelle und nach einiger Zeit geringes Flottieren der Schlinge, jedoch keine eigentlich Peristaltik.

3 h. 30'	Injektion von 6 ccm. Guajakol intravenös.	Lebhafte Einschnürungen und peristaltische Bewegungen am Jejunum und auch an unteren Darmabschnitten. Sehr langsame Kontraktionen des Uterus. Der Blutdruck (normal 85 mm. Hg. Höhe) stieg während der Injektion auf 126 mm. Hg. Höhe.
5 h. 50'	Injektion von 3 ccm. Morphin.	Blutdruck sinkt zur normalen Höhe ab. Die peristaltischen Bewegungen des Darmes bleiben bestehen.
4 h. 20'		Aufhören der Peristaltik.
4 h. 30'	» » 2 » Guajakol.	Sofortiges Auftreten starker Peristaltik.
4 h. 35'	» » 2 » Morphin.	Ohne Einfluss auf Peristaltik
5 h. 05'		Der Darm ist wieder in Ruhe.
5 h. 06'	» » 2 » Guajakol.	Starke Peristaltik.

Diese eigenartigen Wirkungen des Kreosots auf den Darm könnten nicht nur für die Fortbewegung des Darminhaltes von Bedeutung sein, sondern auch für die Resorption. Bekannt ist ja, dass bei der Behandlung der Lungentuberkulose mit Kreosot das wesentliche der Wirkung in der Hebung des Appetits und der Ernährung zu suchen ist. Eine Erklärung hiefür ist schwer zu geben. KLEMPERER (1) hat allerdings an zahlreichen Versuchen bei Menschen gesehen, dass das Kreosot die motorische Tätigkeit des Magens steigert und bezeichnete den Körper als Stomachicum. Die von mir beobachtete Darmwirkung könnte sehr wohl auch Mitursache einer gesteigerten Resorption sein.

Die Ergebnisse meiner Versuche lassen sich kurz dahin zusammenfassen :

1/ Das Kreosot ruft am Darme, vor allem am oberen Teile des Jejunums, peristaltische Bewegungen hervor.

2/ Diese Wirkung tritt bei intravenöser Injektion viel deutlicher zu Tage, als bei lokaler Application, so dass es sich vor allem um eine Wirkung vom Blute aus handeln dürfte.

3/ Die Tiere verhalten sich nicht vollkommen gleich, bei manchen wirkten schon kleinste Mengen von intravenös gegebenen Kreosot, bei

(1) KLEMPERER : *Alkohol u. Kreosot als Stomachica* (Zeitschr. f. kl. Med. Suppl., z. Bd. XVII, 1890).

(2) Schon SCHULZ wies auf die verschiedene Wiederstandsfähigkeit einzelner Individuen gegen Kreosot hin und suchte dieselbe durch Inkonstanz der Zusammensetzung des Mittels zu erklären.

Ich kann mich dieser Anschauung nicht anschliessen. Denn das dem Soldaten im Felde gereichte Kreosot stammte aus der militärischen Centralapotheke, die auf die Herstellung der Pillen stets die grösste Sorgfalt verwendete.

anderen waren grössere nötig, Peristaltik auszulösen. Es erinnert dies an das am Anfange der Arbeit mitgeteilte verschiedene Verhalten der Soldaten gegen Kreosot.

4/ Die Wirkung lässt sich weder durch Atropin noch durch Morphin aufheben.

5/ Der Kreosotinjektion folgt ein Ansteigen des Blutdrucks : In diesem Ansteigen kann aber ebenfalls nicht die Ursache der Darmerscheinung erblickt werden, weil nach Morphininjektion der Blutdruck abfällt, ohne dass die Darmerscheinungen sich ändern.

6/ Diese peristaltischen Bewegungen treten auch am curarisierten künstlich beatmeten Tiere auf, so dass eine Kohlensäurewirkung nicht vorliegen kann.

7/ Die zugleich mit der Darmperistaltik auftretende Uteruskontraktion dürfte gleiche Ursache haben und es ist wahrscheinlich, dass eine direkte Wirkung auf die Muskulatur vorliegt.

8/ Wie Kreosot wirken auch die beiden Hauptbestandteile des Kreosots, das Guajacol und das Kreosol.

Herrn Dr A. Jodlbauer sage ich an dieser Stelle für seine bewährte und freundliche Unterstützung meinen verbindlichsten Dank.

August 1907.

Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Gent.

Wirkung des Kokains auf das Warmblüterherz unter besonderer Berücksichtigung der Extrasystole.

von

Dr med. MARTIN KOCHMANN,
früherem I. Assistenten am Institut,
Privatdozent der Pharmakologie an der Universität Greifswald.

Dr med. FRANÇOIS DAELS,
I. Assistenten am Institut.

Inhaltsangabe.

I. Einleitung.

Reizt man nach Ablauf des refraktären Stadiums das Herz des Warm- oder Kaltblüters in irgend einer Weise, so ensteht ausserhalb der regelmässigen Herzkontraktionen eine Zuckung, welche man als Extrasystole bezeichnet. Dieser Extrazuckung folgt alsdann die kompensatorische Pause. Mit dem Studium gewisser Arrythmien, welche vielleicht der Extrasystole entsprochen haben mögen, und ihrer Unterdrückung durch lokale Applikation von Kokain hat sich Heitler (1) beschäftigt.

(1) Heitler, M.: *Arythmie durch Reizung des Pericardiums,* Wiener klin. Wochenschrift 1898, p. 45. — *Experimentelle Studien über Herzarythmie,* Wiener klin. Wochenschrift 1898, p. 171.

FRÖHLICH (1) zeigte dann offenbar im Verfolg der HEITLER'schen Versuche, dass die Extrasystole am Froschherzen nicht mehr künstlich hervorgerufen worden könne, wenn die Reizstelle vorher kokainisiert wurde. In einer kürzlich erschienenen Veröffentlichung befasste sich der eine (2) von uns mit dem gleichen Gegenstand und kam bei Versuchen am Warmblüterherzen in situ und am LANGENDORFF'schen Herzpräparat unabhängig von FRÖHLICH zu ähnlichen Ergebnissen wie dieser Forscher.

Da die Resultate der früheren Untersuchungen zum Verständnis der vorliegenden Arbeit nötig sind, so sei es gestattet, diese hier in extenso wiederzugeben :

Bei genügender Stromstärke gelingt es, nach Ablauf der refraktären Phase der Herzbewegung durch den Öffnungs- und Schliessungsinduktionsschlag vom Endo- und Perikard aus eine Extrasystole mit kompensatorischer Pause auszulösen oder beim stillstehenden Herzen eine Einzelkontraktion hervorzurufen. Bei Applikation der Reizelektroden auf das Myokard selbst sind wesentlich höhere Stromstärken erforderlich, um eine Extrazuckung auszulösen.

Legt man nun auf irgend eine Stelle des Endo- oder Perikards ein mit einer 2 % Kokainlösung getränktes Fliesspapier, so ist es schon nach kurzer Zeit nicht mehr möglich, von dieser Stelle aus eine Extrasystole zu erzeugen. Die Schlussfolgerungen, welche aus diesen Versuchsergebnissen gezogen wurden, waren die, dass der Extrasystole sowie der Kontraktion am stillstehenden Herzen zwei verschiedene Mechanismen zu Grunde liegen, ja nachdem das Endo- und Perikard bezw. das Myokard gereizt werden.

Nach den Erscheinungen, welche man auch sonst im Verhalten der Reizfähigkeit von Muskeln und Nerven beobachten kann, lag der Gedanke nicht gerade fern, für das Zustandekommen der Extrasystole des schlagenden und der Einzelkontraktion des schon stillstehenden Herzens *dann* die Vermittlung des Nervensystems des Herzens verantwortlich zu machen, wenn die Reizung vom Endo- und Epikard erfolgte, dagegen die Entstehung der genannten Phänomene durch Reizung der Muskulatur zu erklären (vielleicht auch der motorischen Nerven), wenn die Elektroden direkt auf das Myokard apkliziert wurden.

Bestätigung und Beweis fand diese Annahme durch die Versuche mit Kokain. Dieses Alkaloid lähmt in einer Konzentration von 2 % weder die quergestreifte nach die glatte Muskulatur bei einer so kurz

(1) FRÖHLICH, A. : *Zur Kenntnis des Wesens der künstlich erzeugten Extrasystole.* Zentralblatt f. Physiologie 1905, p. 693-698.

(2) KOCHMANN, M. : *Über den Ursprung der Extrasystole,* Arch. int. de Physiologie 1905/1906, p. 94

dauernden Applikation, wie sie in den Versuchen am Herzen geschah; wohl aber werden periphere Nervenstämme und Endigungen, besonders sensiblen Ursprungs in ihrer Erregbarkeit wesentlich geschädigt. Bei den Versuchen am Herzen zeigte es sich auch immer, dass die unter dem kokainisierten Epikard gelegenen Muskelpartien sich ebenso gut kontrahierten und ebenso erregbar waren als die benachbarten oder weiter entfernt gelegenen Teile des Myokards; dass also mit anderen Worten eine Schädigung der Muskulatur durch diese Art der Applikation des Kokains nicht in Frage kam, um die beobachteten Erscheinungen zu erklären.

War durch diese Versuche der Beweis erbracht, dass beim Auslösen der Extrasystole vom Endo- und Epikard die Vermittlung des Nervensystems erforderlich sei, so konnte durch eine einfache Erwägung gezeigt werden, dass im Peri- und Endokard zunächst sensible Fasern oder Endapparate erregt wurden. Motorische Nerven konnten es nicht sein, da diese ja auch in Erregung versetzt werden würden, wenn die Elektroden in das Myokard eingestochen werden; denn falls im Herzen, woran nicht gezweifelt werden sollte, motorische Nerven überhaupt vorhanden sind, so müssten sie sich im Myokard befinden. Man könnte es dann aber nicht verstehen, warum dieselben motorischen Nerven im Epi- und Endokard erregbarer sein sollten als im Myokard, wo sie weit weniger mechanischen Schädigungen ausgesetzt sind als an der Aussenfläche des Herzens. Und dieser Unterschied in der Erregbarkeit war eben durch die Versuche mit Sicherheit festgestellt worden.

Dass sich im Endo- und Perikard Nerven in grosser Zahl vorfinden, welche anatomisch das Substrat für die geschilderten funktionellen Äusserungen abgeben könnten, zeigen die bekannten histologischen Untersuchungen von HEYMANS und DEMOOR (1) und anderen.

Die Extrasystole, welche bei Reizung des Endo- und Perikards zu stande kommt, musste auf Grund der experimentellen Tatsachen und Erwägungen als eine Art von Reflex aufgefasst werden, da auf eine sensible Reizung hin eine motorische Äusserung erfolgte.

Jedenfalls war durch diese Experimente der Versuch gemacht worden, die Organteile, welche bei der Bewegung der Herzens überhaupt eine Rolle spielen können, wenigstens einigermassen funktionell zu trennen.

Für Pharmakologen lag der Gedanke nunmehr ziemlich nahe, diese funktionell mögliche Scheidung bei dem Studium der Herzwirkung pharmakologisch wirksamer Agentien zu benutzen. Dabei hofften wir, einerseits durch diese pharmakologischen Untersuchungen irgendwelche

---

(1) HEYMANS et DEMOOR : *Étude de l'innervation du cœur des vertébrés à l'aide de la méthode de Golgi.* Arch. de Biologie 1895, XIII, p. 619.

für die Physiologie des Herzens interessante Tatsachen feststellen zu können, was, wie ERICH HARNACK (1) hervorhebt, sicherlich *eine* der Aufgaben der Pharmakologie ist. Andererseits wollten wir — und das in erster Linie —, durch Beobachtungen des Verhaltens der Extrasystole unter dem Einfluss einer chemischen Substanz den Versuch machen, eine feinere Analyse der Herzwirkung pharmakodynamischer Agentien zu ermöglichen. Das folgende soll darüber Auskunft geben, ob uns dieser Versuch gelungen ist.

Als Substanz, welche uns das meiste für unsere Versuche zu versprechen schien, wählten wir das Kokain. Die Wirkung dieses Alkaloids auf das Herz und den Blutkreislauf ist verhältnismässig wenig experimentell bearbeitet worden. Ausser älteren Untersuchungen von NIKOLSKY, DANINI, TARCHANOFF, deren Veröffentlichungen in russischer Sprache erfolgten und uns nicht zugänglich waren, konnten wir nur folgende Angaben in der Literatur auffinden. v. ANREP (2) zeigte, dass kleinste Dosen von Kokain auf die Höhe und die Frequenz der Herzschläge des Frosches keinen Einfluss ausüben; Gaben von 0,003 gr. dagegen bedingen einen Abfall der Zahl der Herzschläge und eine Schwächung der Kontraktionen. Schon auf mittlere Dosen tritt eine Lähmung des Vagus ein.

BERTHOLD (3) konnte in seinen Versuchen am Froschherzen immer nur eine lähmende Wirkung konstatieren. MOSSO (4) glaubt auf Grund seiner Beobachtungen am isolierten Froschherzen zu dem Schluss berechtigt zu sein, dass dem Kokain eine exzitierende Wirkung auf das Herz zugesprochen werden müsse, da Stärke und Zahl der Herzchläge unter dem Einfluss kleiner Kokaindosen zunehmen. Höhere Gaben haben nach diesem Autor im allgemeinen eine lähmende Wirkung auf das isolierte Froschherz.

Beim *Warmblüter* beobachtete v. ANREP (5), dass kleine Dosen des Alkaloids die Herztätigkeit nicht beeinflussen, mittlere dagegen die Herzschläge bis auf das Dreifache beschleunigen, ohne sie zu schwächen. Erst grosse Gaben bedingten Verlangsamung des Herschlages. Die Beschleunigung des Herzens nach Kokaindarreichung wird von v. ANREP

---

(1) HARNACK, E. : *Die Wirkung gewisser Herzgifte im Lichte der myogenen Theorie der Herzfunktion.* Arch. f. Anatomie und Physiologie 1906. Sep.-Abd.

(2) v. ANREP, B. : *Über die physiologische Wirkung des Cocains.* Arch. f. d. ges. Physiol. 1879, XXI, p. 39.

(3) BERTHOLD, E. : *Zur physiologischen Wirkung des Cocains,* Centralblatt f. d. med. Wissenschaften 1885, XXIII, p. 146.

(4) MOSSO, U. : *Über die physiologische Wirkung des Cocains.* Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1887, XXIII, p. 153.

(5) v. ANREP, B. : l. c.

auf eine Lähmung des Vagus bezogen, da seine Erregbarkeit gegenüber dem faradischen Strom erloschen war. Zur Zeit der Beschleuniging des Herzschlages konnte ausserdem eine Erhöhung des Blutdruckes gesehen werden. Grosse Gaben bewirkten nach einer anfänglichen Steigerung einen Abfall des Blutdrucks bis auf Null. Die Blutdrucksteigerung wird von LABORDE (1) und BERTHOLD (2), welche sie ebenfalls nach kleinen Dosen beobachten konnten, auf eine Erregung des vasomotorischen Zentrums zurückgeführt, während die Senkung des Aortendrucks von BERTHOLD durch die Lähmung dieses Zentrums erklärt wird.

VULPIAN (3) konstatierte beim Hunde, dass nach einer schwachen Dosis von Kokain ein vorübergehender Abfall des Blutdruckes stattfindet, welchem eine Verlangsamung des Herzschlages vergesellschaftet ist. Die Erscheinungen machten alsbald einer lang anhaltenden Blutdrucksteigerung über die Norm mit Beschleunigung des Herzschlages Platz.

Mosso (4) fand, dass das Alkaloid schon in mässiger Gabe die Stärke des Herzschlages vermindere und die Frequenz wesentlich erhöhe. Diese Pulsbeschleunigung sei aber nicht von einer Lähmung des Vagus abhängig, da dieser reizbar bleibe, wenn auch seine Erregbarkeit für kurze Zeit verringert sei. Eine Abnahme der Pulsfrequenz konnte selbst kurz vor dem Tode nicht beobachtet werden. Der Blutdruck steigt (nach 0,01-0,02 g. Kokain pro kg. Hund) dauernd, und erst wenn das Alkaloid in höherer Gabe gereicht wird, sinkt der Aortendruck.

HEDBOM (5) untersuchte die Wirkung des Kokains auf das nach der Methode LANGENDORFF's isolierte Säugetierherz und fand, dass nach einer 5 Minuten langen Durchspülung mittels einer Kokainlösung von 1 : 10000 eine Verlangsamung des Herzschlages und eine Abnahme der Kontraktionsgrösse eintrete. In einem der Versuche fiel die Amplitude von 18 auf 3 mm. und stieg wieder auf 15 mm. an, nachdem die Durchspülungsflüssigkeit ohne Kokainzusatz durch das Koronargefässystem des isolierten Herzens geleitet worden war. Eine Lösung von 1 : 5500 schädigt das Herz so tief, dass eine Erholung infolge Durchspülung mit kokainfreier Lösung nicht mehr eintrat. Die beobachteten Erscheinungen werden durch eine Lähmung des motorischen Apparates erklärt, doch

(1) LABORDE : zit. nach Mosso und BERTHOLD.

(2) BERTHOLD, E. : *Über den Einfluss des Cocains auf den Blutdruck.* Centralbl. f. d. med. Wissenschaften 1885, XXIII, p. 435. — *Weitere Mitteilung über den Einfluss des Cocains auf den Blutdruck.* Ibid. 1885, XIII, p. 625.

(3) VULPIAN : *Expériences sur le chlorhydrate de cocaine.* zit nach d. Dictionn. de Physiol., 1900, IV. Comp. rend. 1884, XX. XXI.

(4) Mosso, U. : l. c.

(5) HEDBOM : *Über die Einwirkung verschiedener Stoffe auf das isolierte Säugetierherz.* Skandinav. Arch. f. Physiologie 1899, IX. Separatabdruck.

wird eine schädigende Wirkung auf die Muskulatur nicht in Abrede gestellt. HEDBOM gibt aber in seiner Arbeit selbst zu, dass die Versuche nicht zahlreich genug seien, um ein abschliessendes Urteil über die Wirkung des Kokains zu ermöglichen.

Aus den beigebrachten Literaturangaben kann man sich keineswegs ein klares Bild von dem Einfluss des Kokains auf das Herz machen. Immerhin scheint es sich zu zeigen, dass kleine Dosen am isolierten Froschherzen eine Verstärkung der Systole hervorrufen, wobei gleichzeitig die Zahl der Herzschläge zunimmt. Beim isolierten Säugetierherzen bewirken nach HEDBOM ziemlich grosse Dosen eine Abnahme der Frequenz und Amplitude des Herzschlages. Beim Tiere in toto scheint die schon auf mittlere Dosen eintretende Schädigung des Herzvagus und die mit ihr vergesellschaftete Pulsbeschleunigung im Vordergrund der Wirkung zu stehen. Die Blutdrucksteigerung zur Zeit der Vaguslähmung darf wohl ungezwungen auf die vermehrte Pulsfrequenz zurückgeführt werden. VULPIAN hat, im Gegensatz zu anderen Autoren, im Anfang der Kokainwirkung vielleicht auch eine Pulsverlangsamung gesehen, die durch Vagusreizung zu erklären wäre.

Die Versuche am Tiere in toto tragen, wie man sich leicht überzeugen kann, wenig dazu bei, die Herzwirkung eines chemischen Körpers klar erkennen zu lassen. Deshalb zielten unsere ersten Versuche darauf hin ab, diese Beeinflussung des isolierten Herzens durch das Kokain zu untersuchen.

II. Methodik der Versuche.

Die Versuche wurden am LANGENDORFF(1)'schen Herzpräparat angestellt und nach der GOTTLIEB-MAGNUS(2)'schen Methode vorgenommen. Diese Einrichtungen und das Prinzip, auf welchem sie basieren, sind so bekannt, dass es nicht nötig ist, sie hier von neuem zu beschreiben. Wir können uns darauf beschränken zu sagen, dass wir uns zur Registrierung der Herzbewegung der LANGENDORFF'schen Häkchenschreibung bedienten und dass die Herzen von Kaninchen zur Verwendung kamen, welche mit Blut-Ringerlösung durchspült wurden; die Durchspülungsflüssigkeit hatte immer den gleichen Prozentgehalt an defibriniertem Blute (80 ccm. zu 1000 Ringerlösung) aufzuweisen, da es

(1) LANGENDORFF, O.: *Untersuchungen am überlebenden Säugetierherzen.* Arch. f. d. ges. Physiologie 1895 LXI, p. 291.

(2) GOTTLIEB und MAGNUS: *Digitalis und Herzarbeit.* Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1903. LI, p. 30.

durch die Untersuchungen SHERRINGTON's und SOWTON's (1) bekannt ist, dass einzelne Substanzen wie das Chloroform bei gleicher Konzentration eine verschiedene Toxizität für das isolierte Herz besitzen, je nachdem mehr oder weniger Blut der Durchspülungsflüssigkeit zugesetzt ist, eine Tatsache, welche der eine (2) von uns auch für den Alkohol zeigen konnte.

Ziemlich schwierig gestaltete sich die Einrichtung der Reizvorrichtung. Nach vielen vergeblichen Versuchen kamen wir dazu, in dem Inneren des Raumes, in welchem das isolierte Herz aufgehängt ist, ein kleines Stativ zu befestigen, welches an einer nicht ganz unbeweglich sitzenden Klammer eine kleine Reizelektrode trug; diese Elektrode bestand aus zwei dünnen Platindrähten, welche durch ein kleines Ebonitstückchen zusammengehalten wurden. Die Platindrähte waren bis auf eine 1 mm. lange Spitze entweder durch einen Firnissüberzug oder kleine Glaskapillaren isoliert und standen durch Polschrauben mit den umsponnenen Leitungsdrähten in Verbindung, welche ihrerseits die Kommunikation mit der sekundären Spirale eines BOWDITCH'schen Schlittenapparates herstellten, dessen WAGNER'scher Hammer in der bekannten Weise ausgeschaltet wurde. Die Stromquelle bestand aus zwei Meidingerschen Elementen, denen im Verlauf der Untersuchung noch zwei Mangandioxydelemente zugefügt wurde. In den primären Stromkreis war ein DEPREZ'sches Signal eingeschaltet, welches auf den Kurven unterhalb oder oberhalb der Zeitschreibung die Reizung aufschrieb und ferner ein Quecksilberschlüssel, mit dessen Hülfe der Stromkreis geöffnet und geschlossen wurde.

Die Reizung des Herzens geschah entweder an der Oberfläche oder in der Tiefe des Myokards. Im ersten Falle wurden die Reizelektroden von der sie tragenden Klammer gegen das Herz angedrückt, im anderen Falle wurden die Spitzen der Elektroden in das Myokard eingestochen, ohne das Endokard zu verletzen. Da der linke Ventrikel die mächtigste Muskulatur besitzt, so wurden die Elektroden bei den Reizversuchen in der Tiefe des Myokards gewöhnlich in die Wand des linken Ventrikels eingeführt. Die Stromstärke, die uns in dem Öffnungs- und Schliessungsinduktionschlag zur Verfügung stand, konnte in der gewöhnlichen Weise durch die Entfernung der sekundären von der primären Spirale geregelt und gemessen werden. Eine Eichung unseres Apparates nach KRONECKER's (3) Angaben vorzunehmen unterliessen wir, da es uns vorder-

---

(1) SHERRINGTON & SOWTON : *On the dosage of the isolated mammalian heart by chloroform*. British Medical Journal 1904. July.

(2) KOCHMANN, M. : *Die Einwirkung des Alkohols auf das Warmblüterherz*. Arch. int. de Pharmacod. et de Thérap. 1904. XIII, p. 329.

(3) KRONECKER : *Methodisches über Reizung mit Induktionströmen*. Zentralblatt f. Physiologie 1906. XIX, p. 3.

hand noch nicht auf ganz genaue Messungen der Stromstärke ankam, sondern nur Vergleichswerte erforderlich waren. Die Induktionsschläge konnten im übrigen derartig gesteigert werden, dass sie an der Zungenspitze als ausserordentlich schmerzhaft empfunden wurden. An dieser Stelle sei auf eine merkwürdige Erscheinung aufmerksam gemacht, welche wir regelmässig beobachten konnten. Am noch nicht vergifteten Herzen konnten vom Epikard aus mit Hülfe der Induktionsschläge Extrasystolen gerade dann ausgelöst werden, wenn diese induzierten Ströme auch auf der Zungenspitze gerade empfunden wurden. Dass auf der Zunge Nerven gereizt werden, ist kein Zweitel. Könnte diese Beobachtung nicht vielleicht eine weitere Stüze für die Ansicht sein, dass im Epikard sensible Nerven erregt werden ?

III. Wirkung des Kokains auf das isolierte Warmblüterherz.

A/ *Allgemeinwirkungen.*

Unter dem Einfluss von minimalen Zusätzen von Cocainum hydrochloricum zu der Durchspülungsflüssigkeit tritt zunächst eine Vergrösserung der Herzsystole ein, welche manchmal hohe Grade annehmen kann. Gleichzeitig mit der Zunahme der Kontraktionsgrösse tritt eine Verlangsamung des Herzschlages ein. Wird nunmehr das isolierte Herz von neuem mit kokainfreier Durchspülungsflüssigkeit irrigiert, so verschwinden die geschilderten Veränderungen der Tätigkeit des Herzens nahezu wieder vollständig. In unseren zahlreichen Versuchen erwiesen sich uns bei dem gewählten Gehalt der Durchspülungsflüssigkeit (Ringersche Lösung) an Blut Zusätze von 1 bis 2 g. Cocainum hydrochloricum zu 100.000 ccm. Ringerscher Lösung am geeignetsten, um diese ersten Wirkungen zu erzeugen. Geringere Gaben hatten überhaupt keinen Einfluss auf das isolierte Herz und grössere liessen bisweilen schon andere Effekte zu Tage treten. Diese Anfangswirkung des Kokains ist aus den ersten drei Protokollen und den dazu gehörigen Kurven ohne weiteres ersichtlich.

Lösungen von 2 : 100000 des Alkaloids bedingen in einigen seltenen Fällen an schwächer schlagenden Herzen nur Anfangs eine Zunahme der Kontraktionsamplitude; im weiteren Verlauf der Durchspülung mit kokainhaltiger Blut-Ringerlösung tritt dann auch eine Abnahme der Kontraktionsgrösse auf.

Bei weiterer Steigerung des Kokainzusatzes auf 5 : 100000 ist eine Vergrösserung der Systole nicht mehr bemerkbar, dagegen wird die Verlangsamung des Herzschlages sehr deutlich.

Dosen von 10-20 g. zu 100000 der Blut-Ringerlösung bedingen nicht

nur eine Verlangsamung der Schlagzahl des Herzens, sondern rufen auch eine Verkleinerung der Systolenhöhe hervor. Durchspült man in diesem Augenblick das Koronargefässystem des isolierten Herzens wiederum mit kokainfreier Blut-Ringerlösung, so tritt zwar nur eine geringe Zunahme der Pulsfrequenz ein, aber die Amplitude der Systole erreicht wieder das normale Niveau und überschreitet es sogar in vielen Fällen, sodass nunmehr die Systole grösser wird als vor der Zufuhr des Kokains.

Noch höhere Zusätze des Kokains zu der Durchspülungsflüssigkeit (20-30 g. : 100000 ccm. Blut-Ringerlösung) haben eine ziemlich rasch einsetzende Pulsverlangsamung und progressiv fortschreitende Abnahme der Systole bis zum diastolischen Stillstand des Herzens zu Folge. (S. Protokoll 6 u. 7.)

B/ *Verhalten der Extrasystole des isolierten Herzens unter dem Einfluss des Kokains.*

Wie wir eben gesehen haben, bedingen geringe Kokaingaben eine Pulsverlangsamung und eine Zunahme der Kontraktionsgrösse des isolierten Herzens. Reizt man nun in diesem Zustand die *Oberfläche* des Herzens, also das Epikard, mit dem induzierten Strome, in der Absicht, eine Extrasystole auszulösen, so sieht man eine deutliche Abnahme der Erregbarkeit, eine Verminderung der Anspruchsfähigkeit auftreten. Zur selben Zeit ist die Reizbarkeit in der Tiefe der Muskulatur, bei Applikation der Reizelektroden auf das Myokard selbst, nicht geändert, auf keinen Fall wird sie vermindert, im Gegenteil war oft eine geringe Zunahme der Erregbarkeit wahrzunehmen, mit anderen Worten, die Extrasystolen waren leichter, schon durch geringere Stromstärken auszulösen.

Wurde nunmehr das isolierte Herz wieder mit kokainfreier Blut-Ringerlösung durchspült, so kehrte die Erregbarkeit sowohl der Oberfläche des Herzens als auch in der Tiefe der Muskulatur zum normalen Verhalten zurück. Die Reizung des Epikards ergab also schon wieder bei den Stromstärken, wie sie vor der Durchspülung des Herzens mit kokainhaltiger Blut-Ringerlösung zur Verwendung kamen, eine Extrasystole, und die Auslösung dieses Phänomens bei Applikation der Reizelektroden auf die Muskulatur des Ventrikels erfolgte auf gleiche oder um ein wenig kräftigere Induktionsschläge. (S. Prot. und Kurv.) Es braucht wohl kaum hervorgehoben zu werden, dass nicht in allen Versuchen die Rückkehr zur Norm in Bezug auf das Verhalten der Extrasystole eine ganz vollständige war. In der grossen Anzahl gelungener Versuche war sie aber immer zu bemerken, in einer Anzahl anderer Versuche war die Erholung der Erregbarkeit im Epikard gegenüber den angewandten elektrischen Reizen eine unvollständige, aber doch immer deutlich zu konstatieren.

Bei Gaben des Kokains, welche sowohl eine Verlangsamung des Herzschlages als auch eine Abnahme der Systolenhöhe hervorriefen, zeigte es sich, dass die Erregbarkeit für die gewählten Reize an der Oberfläche des Herzens und in der Tiefe der Muskulatur der Ventrikelwand abnahm. Dabei konnte durch eine Anzahl von Versuchen bewiesen werden, dass unter dem Einfluss des Kokains die Reizbarkeit des Epikards schneller abnahm als die der Tiefe der Muskulatur.

Es zeigte sich also das merkwürdige Verhalten, dass das Epikard des normalen Herzens durch die gewählten Stromstärken leichter erregbar war als die Tiefe der Muskulatur. Unter dem Einfluss des Kokains in grösseren Dosen sank nunmehr die Erregbarkeit sowohl des Epikards als auch der Teile des Myokards, aber die des Epikards so schnell, dass es in manchen Fällen unmöglich war bei den stärksten uns gerade zur Verfügung stehenden Induktionsströmen die Extrasystole auszulösen, während die Erregbarkeit des Myokards für diese Stromstärke noch fortbestand.

An dieser Stelle seien die Ergebnisse von Versuchen wiedergegeben, welche deutlich beweisen, dass die beobachteten und soeben geschilderten Erscheinungen der Wirkung des Kokains zuzuschreiben sind und nicht als Absterbeerscheinungen aufgefasst werden dürfen. Herzen, welche, — was häufig genug vorkommt, — schon unter dem Einfluss der normalen Durchspülungsflüssigkeit [illegible] schwächer werdende Tätigkeit aufweisen, zeigen sowohl vom Epikard aus als auch bei der Reizung in der Tiefe des Myokards eine *Zunahme* der Erregbarkeit gegenüber den den gewählten Reizen. Diese Erfahrungen stimmen mit den Beobachtungen überein, welche auch sonst gemacht wurden, dass nämlich absterbende Nerven und Muskeln schon durch schwächere Reize erregt werden als normale Gebilde (Ritter-Valli'sches Gesetz). Um diese Erscheinungen konnte es sich mithin bei unseren Kokainversuchen nicht gehandelt haben, da gerade die umgekehrten Phänomene auftraten.

Wurden nun die Gaben des Kokains so hoch gewählt, dass diastolischer Herzstillstand auftrat, so sank selbst für die stärksten Ströme die Erregbarkeit sowohl des Epikards als auch in der Tiefe des Myokards bis Null. Beim Durchleiten von normaler d. h. kokainfreier Blut-Ringerlösung trat bis zum gewissen Grade Erholung der Herzstätigkeit ein, und auch die Erregbarkeit für induzierte Ströme stellte sich wieder her, und zwar konnten die Extrasystolen bei Applikation der Reizelektroden in der Tiefe des Myokards leichter ausgelöst werden als bei Reizung des Epikards. Die Erholung der Erregbarkeit ist zwar keine vollständige, aber immerhin eine sehr erhebliche wie das beigegebne Protokoll beweist.

c) *Wirkung des Kokains auf das Koronargefässsystem.*

LANGENDORFF (1) macht darauf aufmerksam, dass die Herzkontraktion die Durchblutung des Koronargefässsystems günstig beeinflusse. Im Beginne jeder Systole werde das in den Koronargefässen sitzende Blut wie aus einem Schwamm ausgepresst, wobei zunächst die Venen komprimiert würden, die Arterien sich aber passiv erweitern. Es muss dies ohne weiteres für den Beginn der Systole als richtig zugegeben werden. Aber es ist nicht *eo ipso* richtig, wollte man auf Grund dieser Anschauung sich die Schlussfolgerungen LOEB's (2) vollkommen zu eigen machen, welche dieser Forscher in seiner Arbeit : « Über die Beeinflussung des Koronarkreislaufs durch einige Gifte » ausspricht und die folgendermassen lauten : Ist der Druck, unter dem das Blut in das Koronargefässsystem einströmt und die die Lichtung der Gefässe beeinflussende Temperatur dauernd konstant, so muss jede Verbesserung der Herztätigkeit in Bezug auf Höhe der Kontraktion oder Frequenz die Durchblutung steigern und die Menge des aus dem Koronargefässsystem abfliessenden Blutes zunehmen. Tritt dieser Fall nicht ein oder verringert sich sogar wie unter dem Einfluss des Digitoxins die Quantität des abströmenden Blutes, so muss diese Erscheinung nach LOEB auf eine Vasokonstriktion bezogen werden. Umgekehrt müsse eine Zunahme der Blutmenge bei sinkender Herzenergie auf eine Vasodilatation zurückgeführt werden.

Ob diese Deduktionen LOEB's vollkommen zutreffen, ist nach unserer Ansicht noch nicht sicher festgestellt; da LOEB die Diastole ausser Acht lässt. Man könnte sich ganz gut vorstellen, dass desto mehr Blut in das Koronargefässsystem einstömt und infolgedessen wieder herausgetrieben wird, je länger die Diastole ist; vorausgesetzt dass die Systole kräftig genug ist, um das Blut herauszubefördern. Jedenfalls haben wir regelmässig beobachten können, dass die abfliessende Blutmenge bei stillstehendem Herzen am grössten ist. Abgesehen von diesen Erwägungen können wir auch nach den Ansichten LOEB's bei unseren Versuchen keine Schlüsse auf den Kontraktionszustand der Koronargefässe des Herzens machen; dann wir sehen, dass unter dem Einflusse der kleinen Dosen unseres Alkaloids zu einer Zeit, wo die Systole grösser ist als in der Norm und die Pulsfrequenz geringer geworden ist, eine Zunahme der aus dem Herzen abfliessenden Flüssigkeitsmenge statthat. Es würde also nicht ummöglich sein, dass das Kokain vasokonstriktiv wirke, diese Vasokonstriktion aber nicht bemerkt werde, weil die Systole an Umfang erheblich zugenommen hat (was der Ansicht LOEB's entsprechen würde),

(1) LANGENDORFF, O. : *Ergebnisse der Physiologie*. I. 1902. Wiesbaden.

(2) LOEB, O. : *Über die Beeinflussung des Koronarkreislaufs durch einige Gifte*. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1904. LI, p. 64.

oder weil, wie *wir* glauben, die Diastole länger andauert und mehr Blut in das Koronargefässystem einschiesst, welches durch die kräftige Systole herausbefördert wird.

Es mag daher nur die Tatsache betont werden, dass während des ersten Stadiums der Kokainwirkung eine bessere Durchblutung des Koronargefässystems und damit des Herzmuskels stattfindet.

Aber auch unter dem Einfluss grosser Kokaindosen, wenn also Systolenumfang und Pulsfrequenz abnehmen, ist ein Zunahme der aus dem Herzen abfliessenden Flüssigkeitsmenge zu konstatieren. Wir können uns aber nicht entschliessen, diese Erscheinung trotz der sinkenden Herzenergie auf eine Vasodilatation im Gebiete des Koronargefässystems zurückzuführen. Wir begnügen uns daher die Tatsache angeführt zu haben.

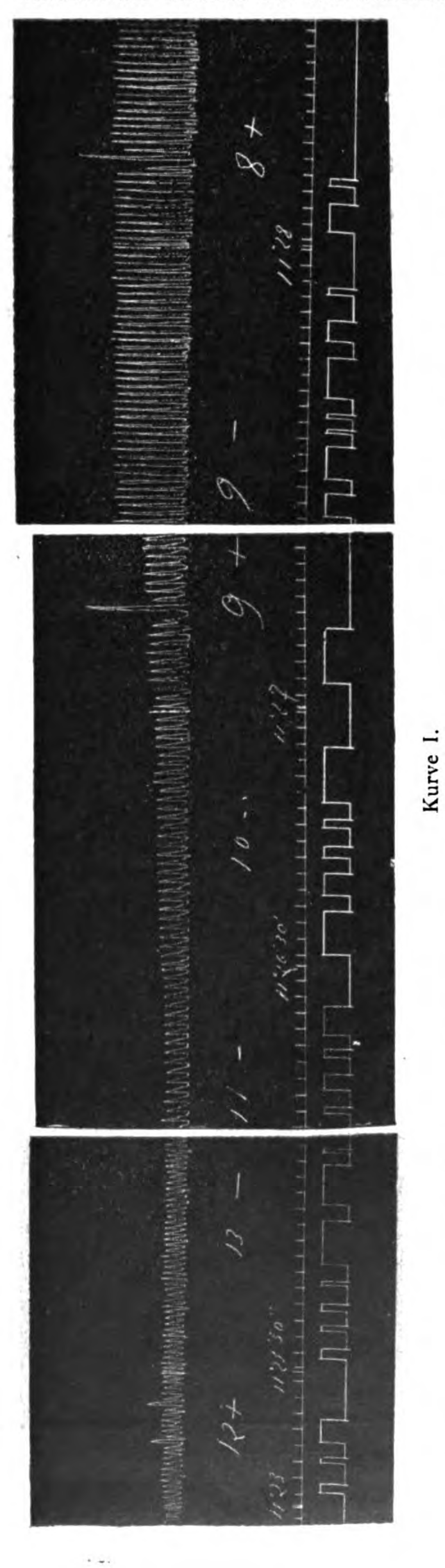
Bevor wir nun dazu übergehen, die Ergebnisse der experimentellen Untersuchungen zusammenzufassen und an diese Zusammenfassungen unsere Erklärungen und Schlusfolgerungen zu knüpfen, sollen im folgenden einige Protokolle und Kurven als Beispiele angeführt werden, welche wir aus den Versuchen, mehr als 60 an der Zahl, ausgewählt haben :

IV. Protokollauszüge.

Protokoll I.

Zeit.	Höhe der Systole mm.	Herzfrequenz in 10″	Rollenabstand.	Bemerkungen.
11 h. 21′	2,5	34	12 +	Reizung an der Herzoberflache.
11 h. 24′	3,3	26	13 —	Gleichmässig geworden.
11 h. 24′ 20″				Cocain. hydrochlor. 1 : 100000
11 h. 25′ 30″	3,5	20	12 —	
11 h. 26′	3,7	18	11 —	
11 h. 26′ 30″	4	17	10 —	
11 h. 27′	6	17	9 +	
11 h 27′ 30″	10	19	9 —	
11 h. 28′	11	19	8 +	
11 h. 29′ 30″				Normallösung.
11 h. 35′	9	16	9 +	
11 h. 36′	9,2	16	10 +	

Versuch abgebrochen.

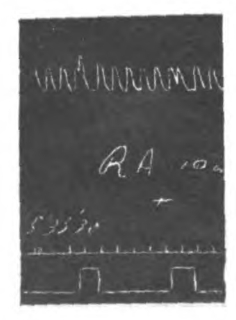


Kurve I.

Die Kurvenfragmente, welche dem vorstehenden Versuch entnommen sind, zeigen sehr deutlich die Pulsverlangsamung, die Zunahme der Systolenhöhe und die gleichzeitige Abnahme der Erregbarkeit bei Applikation der Reizelektroden auf das Epikard.

Protokoll II.

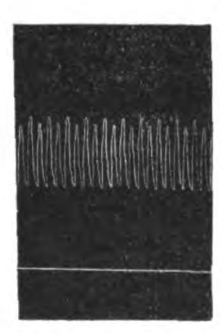
Zeit.	Systolenhöhe mm.	Pulsfrequenz in 10″	Rollenabstand R. A.	Bemerkungen.
5 h. 31′	4	11		
5 h. 33′	3,5	11	10,5 –	Reizung des Epikards.
5 h 35′ 30″	3,5	10	10 +	Gleichmässiger Herschlag.
5 h 36′				Kokainlösung 2 : 100000.
5 h 37′	3,5	11	10 —	
5 h 39′	4.5	10	10 — 9 —	
5 h 40′	5,0	10	8 — 7 —	
5 h 43′	5,25	9	6 + 7 —	
5 h. 44′ 50″				Normallösung.
5 h. 45′ 20″	5,25	8	7 +	
5 h. 47′	5,25	10	8 +	
5 h. 49′	5,25	15	8 + 9 —	
5 h. 52′	4	18	9 — 8 +	
5 h. 54′	3	17	8 + 9 +	
5 h. 55′				Von neuem Kokaindurchspülung
5 h. 58′	3,25	11	8 +	
6 h. 00′	3,5	10	8 —	
6 h 02′	4,0	10	8 — 7 +	
6 h. 08′				Wiederum Normallösung.
7 h. 38′	3,5		8 +	





Kurve II.

Die Kurve zeigt einzelne Abschnitte des Protokolls II. Die Zunahme der Systolenhöhe von 3,5 mm. auf 5 mm. unter Einwirkung des Kokains geht einher mit einem Absinken der Reizbarkeit des Epikards von 10 cm. R. A. auf 6 cm., Entfernung der sekundären von der primären Spirale, bei welcher die Extrasystole eben auslösbar war. Bei der Durchspülung mit kokainfreier Blut-Ringerlösung steigt die Erregbarkeit wieder auf R. A. = 9 cm., die Pulshöhe auf 17 in 10″, die Systole dagegen fällt von 5,25 mm. auf 3 mm.

Kurve III.

Die Kurve zeigt, dass gewisse Unrelmässigkeiten, welche bei manchen Herzen vorkommen, durch das Kokain nicht beeinflusst werden, obzwar die typischen Veränderungen eintreten : Pulsverlangsamung und Höherwerden des Pulses. Kokainlösung 2 : 100000.

Protokoll III.

Zeit.	Systolenhöhe mm.	Pulszahl. in 10″	Rollen-abstand.	Bemerkungen.
8 h. 33′	44	37		Die Elektroden sind in das Myokard eingestochen
8 h. 36′	37	36	10 — 9 +	
8 h. 36′ 45″				Kokainlösung 2 : 100002.
8 h. 39′	44	32	10 +	
8 h. 41′	36	23	10 +	
8 h. 41′ 30″	33	20	10 +	
8 h. 42′				Normallösung.
8 h. 45′	33	19	10 +	Abgebrochen.

Nach einer anfänglichen Steigerung der Amplitude macht sich ein progressives Absinken bemerkbar. Zugleich mit dem Ansteigen der

Kontraktionshöhe tritt eine grössere Erregbarkeit in der Tiefe der Muskulatur ein.

Protokoll IV.

Zeit.	Systolenhöhe mm.	Pulszahl in 10″	Rollen-abstand.	Bemerkungen.
10 h. 26′	3,0	30		Reizung der Herzoberfläche.
10 h. 29′	3,5	30		
10 h. 30′				Kokainlösung 10 : 100000.
10 h. 32′	5,0	14		
10 h. 34′	3,0	9		
10 h. 36′	2,0	7		
10 h. 39′	1,5	6		
10 h. 40′	1,5	6	0 cm. —	
10 h. 41′				Normallösung.
10 h. 44′	2,0	9		
10 h. 45′	3,0	8	3 cm. +	
10 h. 50′	4,0	6		
10 h. 53′	4,0	5		

Wir sehen in diesem Versuch zunächst eine vorübergehende Steigerung der Kontraktionsgrösse des Herzens unter der Einwirkung des Kokaïns auftreten, dann aber kommt es zu einem schnellen Abfall der Systolenhöhe und starken Pulsverlangsamung. Die Erregbarkeit an der Oberfläche ist minimal, selbst mit R. A. = 0 ist eine Reaktion in Gestalt einer Exstrasystole nicht hervorzurufen. Bei der nachfolgenden Durchspülung des Koronargefässystems mit kokainfreier Lösung tritt die Tendenz zur Rückkehr zum normalen Verhalten auf. Bei gleichzeitigem Ansteigen der Systolenhöhe und Zunahme der Pulsfrequenz lässt sich die Extrasystole nunmehr schon bei R. A. = 3 cm. auslösen.

Protokoll V.

Zeit.	Systolenhöhe in mm.	Puls-frequenz in 10'	Bemerkungen.
6 h. 7'	2,5	22	
6 h. 12'	2,0	25	
6 h. 14'			Kokainlösung 15 : 100000.
6 h. 16'	1,5	8	
6 h. 17'	1	8	
6 h. 21'	1	8	
6 h. 24'			Kokainfreie Blut-Ringerlösung.
6 h. 27'	1,3	8	
6 h. 30'	2.0	8	
6 h. 33'	3,0	8	
6 h. 35'	3,0	7	

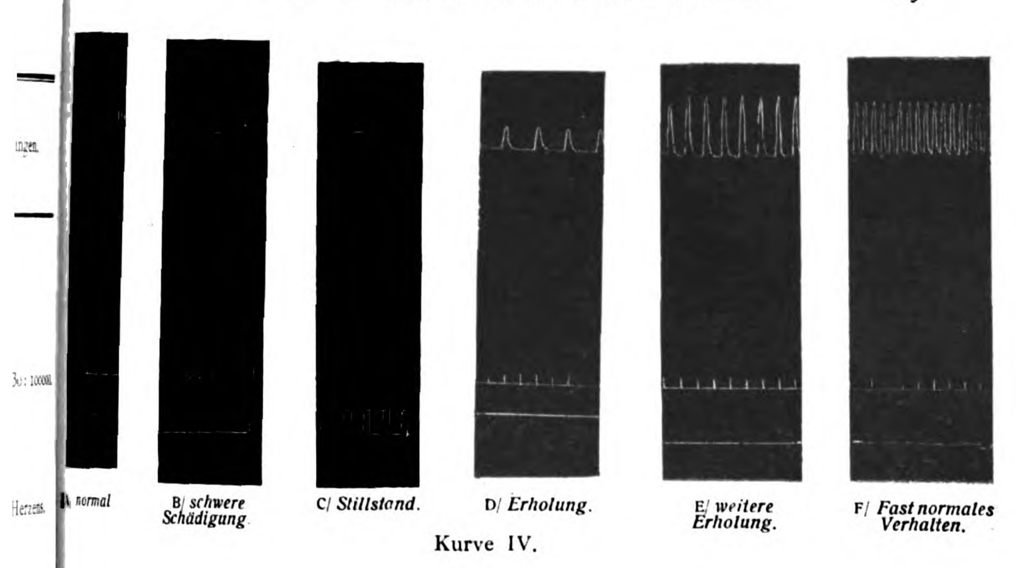
Unter der Wirkung des Kokains dauernd Abfall der Systolenhöhe und Pulsverlangsamung. Die Durchspülung mit einfacher Blut-Ringerlösung hebt zwar die Kontraktionsgrösse des Herzens, nicht aber die Frequenz.

Protokoll VI.

Zeit.	Systolenhöhe in mm.	Pulsfrequenz in 10''	Rollen-abstand.	Bemerkungen.
11 h. 35'	7,0	34		
11 h. 36'	7,0	37		
11 h. 40'	7,0	31		
11 h. 44'				Kokainlösung 30 : 100000.
11 h. 46'	1,25	5		
11 h. 47'	1,25	3		
11 h. 49'	0	0		Stillstand des Herzens.
11 h. 50' 30''				Normallösung.
11 h. 51'	2,0	1 Kontraktion		
11 h. 52'	2.0	2		
11 h. 53'	2,3	5	0 cm. — Oberfläche gereizt.	
11 h. 54'	4,0	6	0 cm. + Reizung in der Tiefe der Muskulatur.	
11 h. 55'	5,0	5	0 cm. — Oberfläche gereizt.	
11 h. 55' 30''	5,5	6	0 cm. + Tiefenreizung.	
11 h. 58'	8,0	10		
12 h. 2'	7,0	17		Versuch abgebrochen.

Der Versuch zeigt sehr schön die Pulsverlangsamung und den allmählichen Abfall der Amplitudenhöhe, sowie den vollkommenen diastolischen Stillstand. Dann sieht man, wie infolge der Durchspülung mit kokainfreier Blut-Ringerlösung die Herztätigkeit langsam wieder in die Höhe kommt. In einem gegebenen Zeitpunkt lässt sich dabei von der Oberfläche des Herzens, dem Perikard, keine Extrasystole durch den angewandten Strom auslösen, dagegen vermag man von der Tiefe der Muskulatur aus mit derselben Stromstärke eine Extrasystole hervorzurufen.

Die beifolgende Kurve illustriert das vorstehende Protokoll.



Kurve IV.

Protokoll VII.

Zeit.	Systolenhöhe in mm.	Pulsfrequenz	Rollenabstand.	Bemerkungen.
6 h. 10'	5,0	29		
6 h. 15'	5,5	26		
6 h. 17'				Kokainlösung 60 : 100000
6 h. 17' 50"	0	0		
6 h. 21' 20"	0	0		Kokainfreie Blut-Ringer-lösung.
6 h. 23'	2,0	3	0 cm. — Epikard.	
6 h. 25'	3,5	4	0 cm. + Muskulatur	
6 h. 26'	4,5	8	0 cm. — Epikard	
6 h. 27'	5,5	7	0 cm. + Muskulatur	
6 h. 28'	7,0	7		
6 h. 30'	8,0	8		

Das Protokoll zeigt dasselbe wie das vorangehende, doch ist hier besonders der lange diastolische Herzstillstand zu beachten, dem trotzdessen noch eine ausgedehnte Erholung zu folgen vermag. Dann sei hier von neuem auf die Unterschiede in der Erregbarkeit des Epikards und Myokards hingewiesen.

Protokoll VIII.

Zeit.	Systolenhöhe in mm.	Puls-frequenz.	Rollen-abstand.	Bemerkungen.
5 h. 56'	7,0	26	9 cm. +	Einstechen der Reizelektroden in die Tiefe des Myokards.
5 h. 58'	6,5	26	10 cm. +	
5 h. 59'	6,0	26	11 cm —	
6 h. 40''	6,0	26		
6 h. 55''	bis 0 in 45''			Kokainlösung 60 : 100000.
6 h. 2'				Normallösung.
6 h. 3' 20''	0		0 cm. + / 0 cm. —	Auf Reize Einzelkontraktionen.
6 h. 8'	2,5	9	0 cm. +	
6 h. 10'	?		5 cm. +	Unregelmässigkeit.
6 h. 14'	3,5	17	7 cm. +	
6 h. 17'	3,0	17		
6 h. 24'	1,5	22		

Das Protokoll VIII zeigt in deutlichster Weise auch die Wiederherstellung der elektrischen Erregbarkeit bei Applikation der Elektroden auf das Myokard, nachdem dasselbe durch unseren sehr starken Strom nicht mehr reizbar gewesen war.

V. Zusammenfassung der Ergebnisse und Schlussfolgerungen.

In kurzen Worten lassen sich die durch die experimentellen Untersuchungen festgestellten Tatsachen folgendermassen wiedergeben :

1. Kokain in geringen Mengen zu der Blut-Ringerlösung zugesetzt, welche zur Durchspülung des Koronargefässystems des nach LANGENDORFF isolierten Herzens dient, bewirkt, dass das Herz sich *stärker* aber *langsamer* kontrahiert als in der Norm. Dabei ist die Extrasystole vom Perikard schwerer auszulösen, während die Erregbarkeit vom Myokard nicht sinkt, sondern manchmal sogar eine erhöhte Anspruchsfähigkeit gegenüber dem induzierten Strom nachweisbar sein kann. **Anfangsstadium** der Kokainwirkung.

2. In etwas grösseren Gaben (2 : 100000) tritt nach einer Zeit der kräftigeren Herztätigkeit bei verlangsamtem Herzschlage eine Abnahme der Systolenhöhe und der Pulsfrequenz ein. **Übergangsstadium.**

3. Weitere Steigerung der zugesetzten Kokainmenge ruft von Anfang

an eine Verlangsamung des Herzschlages und Kleinerwerden der Pulshöhe hervor. Dabei ist sowohl die Erregbarkeit des Epikards als auch die in der Tiefe des Myokards stark herabgesetzt. Die Anspruchsfähigkeit, welche sich gegenüber dem applizierten Reiz im Auftreten einer Extrasystole äussert, sinkt im Epikard wesentlich schneller als im Myokard, sodass bei einer bestimmten Stromstärke hier noch Extrasystolen auslösbar sind, bei Reizung des Epikards aber dies Phänomen nicht mehr auftritt. **III Stadium** oder **Stadium der beginnenden Lähmung**.

4. Noch höhere Kokaindosen, wie etwa 30 bis 50 : 100000, bedingen unter Kleinerwerden und Verlangsamung des Herzschlages schliesslich den diastolischen Herzstillstand. **Endstadium.**

5. Bei nachfolgender Durchspülung des Koronargefässystems mit kokainfreier Blut-Ringerlösung tritt in allen Stadien der Kokainwirkung eine Erholung ein, die je nach dem Grade der Vergiftung mehr oder weniger vollständig ist und sich sowohl auf die Kontraktionshöhe und die Frequenz als auch auf die Erregbarkeit (Extrasystole) des Epikards bezw. der tiefer gelegenen Elemente des Myokards erstreckt.

Dabei führt nach kleinen Kokaindosen die Durchspülung mit « Normallösung » eine kleinere Amplitudenhöhe und Pulsbeschleunigung herbei, und die elektrische Erregbarkeit des Epikards nimmt wieder erheblich zu; nach grösseren Kokaingaben, welche schon das dritte oder sogar das vierte Stadium der Wirkung im Gefolge haben, bemerkt man zunächst ein Ansteigen der Pulshöhe über die Norm. Pulsfrequenz und Erregbarkeit erreichen nicht mehr vollständig das normale Niveau, zeigen immer aber die Tendenz dazu.

6. Beim langsam absterbenden Herzen (ohne Einwirkung des Kokains) wird die Erregbarkeit zunächst grösser (RITTER-VALLI'sches Gesetz).

Das Interessanteste an diesen Ergebnissen ist wohl das Verhalten der Extrasystole. Wir sehen, dass die Reizschwelle, welche überschritten werden muss, um eine Extrasystole zu stande kommen zu lassen, und welche bei Reizung des Epikards bezw. der Myokardelemente schon physiologischer Weise verschieden ist, unter Einwirkung des Kokains eine ganz verschiedene Änderung erfährt. Nach kleinen Kokaingaben ändert sich die Erregbarkeit des Epikards und der Myokardelemente im entgegensetzten Sinne, bei grösseren Gaben zwar gleichsinnig, aber keineswegs parallel gehend, sondern in vollkommener Disproportion. Daraus ergibt sich von neuem eine Bestätigung der Ansicht, welche der eine von uns (K.) in seiner Arbeit : « Über den Ursprung der Extrasystole » ausgesprochen hat, nämlich dass der Extrasystole ein verschiedener Mechanismen zn Grunde liegt, je nachdem das Epikard oder die Myokardelemente gereizt werden. Und die Hypothese, dass bei

Reizung des Epikards sensible Nerven gereizt werden, bei Applikation der Reizelektroden auf das Myokard aber die Muskeln (vielleicht auch motorische Nerven) exzitiert werden, dass also in ersterem Falle die Extrasystole als ein Reflexvorgang aufgefasst werden muss, erfährt durch diese Versuche eine weitere Stütze.

Wenn wir uns diese Anschauung zu eigen gemacht haben, so können wir sie dazu verwenden, die Wirkung des Kokains in den verschiedenen Stadien wenigstens einigermassen zu erklären und zu analysieren, wobei wir ausdrücklich hervorheben möchten, dass wir diese Erklärung keineswegs als unwiderleglich bewiesen betrachten. Sie soll vielmehr nur als Hypothese angesehen werden, als Hypothese allerdings, für die wir wesentliche experimentelle Stützen beigebracht zu haben glauben :

1. *Anfangsstadium der Kokainwirkung.*

Die Pulsverlangsamung am Herzen könnte einmal dadurch herbeigeführt worden sein, dass die Hemmungsnerven des Herzens durch das Kokain gereizt werden. Dass konnten wir durch Atropinisierung des Herzens ausschliessen. Wir konnten niemals nach Atopindarreichung die durch Kokain hervorgerufene Verlangsamung aufheben. Dann könnte für eine Pulsverlangsamung eine Herabsetzung der Tätigkeit des exzito-motorischen Apparates in Betracht kommen; das ist unmöglich, da die Systolenhöhe grösser wurde. Am leichtesten ist die Erklärung, dass die Lähmung sensibler Nerven im Perikard gewisse Reize von der Peripherie ausschaltet, welche sonst normaler Weise die Herzkontraktion bedingen. Wir stellen uns damit auf den Boden einer Lehre, nach welcher der Herzschlag ein reflektorischer Vorgang ist, eine Lehre, welche unter andern von mehreren Forschern scharf betont wird, und die in neuester Zeit durch Versuche von SOLLMANN (1) eine weitere Stütze gefunden hat. Dass im Anfangsstadium der Kokainwirkung wirklich periphere sensible Nerven teilweise gelähmt worden sind, glauben wir durch die Reizungsversuche und die Auslösung der Extrasystole vom Perikard aus bewiesen zu haben.

Das Grösserwerden der Systole unter dem Einfluss des Kokains wird auf zweifache Art erklärt werden können. Einmal konnten wir konstatieren, dass in manchen Fällen die Erregbarkeit in der Tiefe des Myokards zugenommen habe, dass also die Myokardelemente durch das Kokain reizbarer geworden waren, was zur Vergrösserung der Systolen führen müsste. Dann aber sahen wir, dass im Anfangsstadium mehr Blut-Ringerlösung durch das Koronargefässystem durchfloss, also eine

(1) SOLLMANN, T : *The revival of the excised Mammalian heart by perfusion with oil.* Am. Journ. of Phys. XV, 2, p. 121. Zit. nach Zentralblat f. Phys. 1906, 3. p. 90.

bessere Durchblutung des Herzmuskels zu stande kommt, was auf die Grösse der Kontraktion von Einfluss ist (LANGENDORFF l. c.).

2. *Lähmungs- und Endstadium.*

2. Das Lähmungs- und Endstadium der Kokainwirkung lassen sich ungezwungener Weise durch eine zunehmende Lähmung des Muskels erklären, welche wir in unseren Reizversuchen bei Einstechen der Reizelektroden in das Myokard bewiesen haben. Inwieweit bei diesen Stadien der Wirkung ausserdem noch Lähmungen sensibler Nerven, welche in der Tat vorhanden ist, oder die motorischer Zentren in Betracht kommen, soll nicht weiter erörtert werden, da die Lähmung des Muskels zur Erklärung ausreicht.

Wenn das Herz schon steht, konnte allerdings vom Myokard aus noch eine Extrakontraktion ausgelöst werden, vom Epikard war es uns trotz stärkster Reize nicht möglich, eine Zuckung hervorzurufen. Der Stillstand kann infolge dessen durch die vollkommene Ausschaltung der peripheren Reize oder durch die Lähmung des exzitomotorischen Apparates bedingt sein, was durch unsere Versuche jedoch nicht zu entscheiden ist.

Wenn durch Irrigation des Koronargefässystems mit kokainfreier Blut-Ringerlösung nach Aussetzen der Durchspülung mit schädigenden Dosen die Erholung der Systolenhöhe über die Norm hinaus erfolgt, so muss man daran denken, dass die im Herzen vorhandenen Kokainmengen allmählich herausgeschafft werden, sodass zu einer gegebenen Zeit eine so geringe Konzentration des Giftes vorhanden ist, dass die günstige, « exzitierende » Wirkung des Alkaloids in Frage kommt.

Wir haben es absichtlich vermieden, auf Grund unserer experimentellen Untersuchungen Stellung zu der Frage zu nehmen, ob der Herzschlag neurogenen oder myogenen Ursprungs sei. Wir haben uns begnügt, den Versuch zu machen, die Entstehung einer *physiologischen* Erscheinung, der Extrasystole, zu erklären bezw. eine schon vorhandene Ansicht durch die *pharmakologische* Untersuchung der Herzwirkung des Kokains zu stützen und dann diese Wirkung feiner zu analysieren als es bisher möglich was. Immerhin muss betont werden, dass die Versuchsergebnisse keinesfalls zu Gunsten der myogenen Theorie sprechen.

Untersuchungen mit anderen Substanzen sind im Gange und sollen in nicht allzulanger Zeit veröffentlicht werden.

Greifswald, im August 1907.

Travail du Laboratoire de Physiologie de l'Université d'Odessa
(Directeur : Prof. B. Werigo).

Sur l'action de la Delphocurarine de Heyl,

PAR

K. KRCHICHKOWSKY,
Assistant de Physiologie à l'Université d'Odessa (Russie).

En 1902 Heyl a extrait du Delphinium scopulorum un nouvel alcaloïde, dont le chlorhydrate a été mis dans le commerce par E. Merck sous le nom de Delphocurarine. Ce corps est une poudre blanc jaunâtre, facilement soluble dans l'eau et l'alcool. D'après Heyl cet alcaloïde, se rapprochant par son action physiologique du curare, pourrait remplacer ce dernier dans la technique physiologique. Cette opinion de Heyl a été confirmée par Lohmann qui s'était prononcé (1) pour la possibilité de remplacer le curare par ce nouveau composé dans l'étude de la physiologie du tissu musculaire.

Il paraissait donc qu'ainsi s'accomplissait l'ancien désir des physiologistes d'avoir à leur disposition un corps chimiquement défini ayant les propriétés du curare (2). Malheureusement, d'après les expériences de Lohmann on ne pouvait pas juger de la possibilité d'un pareil remplacement. En effet, Lohmann a observé des symptômes très marqués d'inhibition chez les grenouilles (3), sous l'influence d'injection hypodermique de 4-8 °/o de la solution (4). L'analyse de ce phénomène amena Lohmann à la conclusion que la delphocurarine agit sur les appareils terminaux des nerfs moteurs, c'est-à-dire que son action est analogue à celle du curare.

Ces données sont certainement insuffisantes pour reconnaître la complète analogie de l'action de la delphocurarine et du curare.

---

(1) Après des expériences faites sur des grenouilles.

(2) L'existence d'un pareil corps est surtout nécessaire à présent puisque le curare du commerce est devenu de mauvaise qualité.

(3) Lohmann n'a pas fait d'expériences sur des animaux à sang chaud.

(4) D'après des calculs il faut 0,001 de delphocurarin par 1,0 de poids de l'animal *(rana esculenta)*, pour la *rana temporaria* il en faut moins.

Nous avons donc entrepris plusieurs expériences dont nous croyons nécessaire de faire connaître le résultat, étant donné le peu d'étendue des connaissances actuelles sur l'action des alcaloïdes extraits du Delphinium.

Nous n'avons pas pu faire une analyse complète et systématique des qualités pharmacologiques de la delphocurarine (1), et pour cette raison nous nous sommes contenté d'étudier seulement l'action de ce corps, sur l'appareil vasomoteur en particulier.

D'abord, nous avons observé le résultat d'une injection hypodermique de delphocurarine sur un animal à sang chaud (lapin).

Un lapin de 400-500 gr. supporte très bien une injection hypodermique de 0 gr. 2—0 gr. 3 de delphocurarine. L'introduction, dans le tube digestif, du corps étudié, est aussi bien tolérée, à ce qu'il paraît (2).

Mais nous avons pu observer un tout autre effet en introduisant la Delphocurarine directement dans les vaisseaux du lapin; nous avons choisi les vaisseaux les plus rapprochés du cœur (veine jugulaire gauche).

Déjà vers la fin de l'injection on a constaté un ralentissement (3) du pouls carotidien et après 2-2 1/2 minutes l'arrêt du cœur.

Il est donc clair que la Delphocurarine a une action énergique sur le cœur.

Les expériences ultérieures nous ont complètement persuadé que la Delphocurarine est en effet un poison cardiaque.

Pour le prouver nous citons deux expériences faites sur des chiens (4).

Expérience du 22 décembre 1903.

On a pris un chien (mâle) de 11200 gr. La pression sanguine était inscrite à l'aide d'une canule introduite dans la carotide gauche par le manomètre de Hürtle (5).

A 1 h. 30' on a injecté dans la veine fémorale 0 gr. 25 de Delphocurarine (2 c.c. contenant 12,5 % de la solution). Comme le prouve la courbe n° 1, la pression sanguine a immédiatement baissé considérablement, précisement de 160 mm. à 100 mm. (6).

---

(1) Nous ne disposions ni de quantité suffisante de ce corps (assez cher), ni de temps nécessaire, puisque notre travail a été arrêté par la guerre russo-japonaise.

(2) 0 gr. 1—0 gr. 2 n'ont presque aucune action sur un lapin de 400—500 gr.

(3) A un lapin de 1000 gr. on a injecté une solution de 0 gr. 1 de Delphocurarine dans 2 c.c. d'eau distillée.

(4) Nous avons 8 expériences analogues, nous n'en citons que 2, par faute de place, puisque les résultats des autres sont analogues.

(5) Gummimanomètre du prof. Hürtle. L'avantage de ce manomètre est d'enregistrer simultanément la pression sanguine et le pouls. Le manomètre était gradué chaque fois avant et après l'expérience d'après un manomètre à Hg (mercure).

(6) De la colonne de Hg (mercure).

Pression artérielle normale (160 mm. Hg.)

1 h. 30' 0,25 DC. 1 h. 33' 1 h. 35' Respirat. artific. 1 h. 45' 1 h. 47'

Temps en secondes.

Press. artérielle (60 mm. Hg.)

Abscisse

30' après (2 h. 00').

Courbe I.

2' après il y avait arrêt de la respiration.

On a fait la respiration artificielle.

La pression sanguine continue à baisser (jusque 60 mm. Hg 30' après le commencement de l'expérience). Le caractère de la courbe est aussi changé, comme on le voit sur le tracé ci-joint (nº 1).

Les ondes sanguines sont plus rares et plus basses. Le réflexe de la cornée a disparu avant les autres. Les muscles répondaient aux excitations électriques directement et par excitation des nerfs (n. axillaire (médian), n. saphène).

Voici une expérience analogue :

Expérience du 14 janvier 1904.

On a pris un chien (mâle) de 4000 gr. A 11 h. 40' on a séparé l'artère carotide gauche. On y a introduit la canule mise en communication avec l'appareil de Hürtle (1).

Simultanément avec la pression sanguine, on inscrivait la respiration à l'aide de la capsule de Marey adaptée à la paroi abdominale du chien.

A 11 h. 45' on a injecté dans la veine fémorale 0 gr. 1 de delphocurarine (en solution dans 1 c.c. d'eau). La pression sanguine s'abaisse immédiatement. Avant l'injection la pression était de 166 mm. Hg.

Après l'injection de 0,1 de delphocurarine :

Après	17''	=	142	mm. Hg
—	20''	=	134	—
—	26''	=	126	-
—	38''	=	120	—
—	47''	=	104	—
—	2'	=	61	-
—	5'	=	48	—

Sur la courbe de la respiration (courbe nº 2) nous voyons qu'après l'introduction de la Delphocurarine étaient apparues des convulsions des muscles respiratoires. Cependant l'arrêt de la respiration n'a pas eu lieu. La respiration était devenue moins profonde que normalement et son rythme plus fréquent.

A midi 05', on a injecté encore 0,1 de Delphocurarine (également dans la veine fémorale). Après cette injection la respiration s'est fortement affaiblie. Les muscles respiratoires ont cessé de se contracter. Seule, une faible action des muscles abdominaux a été conservée. Il est intéressant de remarquer qu'un si fort affaiblissement des mouvements respiratoires n'a pas influencé la courbe de la pression sanguine.

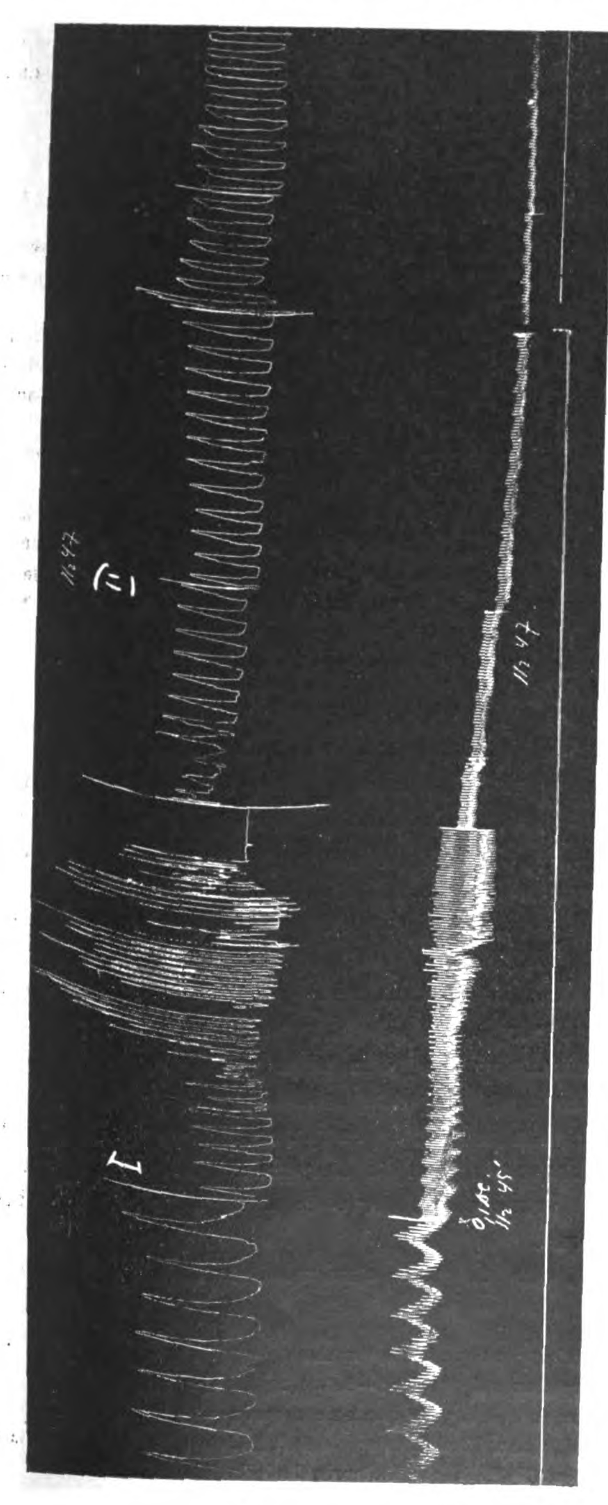
Il est presque certain que la Delphocurarine a eu un effet inhibitoire sur le centre vasomoteur.

24'' après la seconde injection la pression sanguine descendit de 93 mm. Hg jusqu'à 45 mm. Hg. Les réflexes dans ce cas disparurent complètement. Il nous a paru que l'état d'inhibition était complet (2).

---

(1) Gummimanomètre.

(2) L'excitation du n. axillaire (médian) par un fort courant inducteur (les bobines avaient été presque complètement rapprochées) n'avait aucun effet et en même temps les muscles réagissaient à l'excitatiou directe par le courant.



Courbe 2

A = Respiration diaphragmatique.
B = Pression artérielle.
C = Abscisse.
DC = Delphocurarine.

Étant assuré de l'action énergique de la Delphocurarine sur le cœur d'un animal à sang chaud, nous avons fait quelques expériences du même genre sur des animaux à sang froid (grenouilles).

Je vais citer une de ces expériences :

Expérience du 15 mars 1904.

Une grenouille *(rana temporaria)* de 45 gr. est fixée sur une planchette de liége. Le thorax a été ouvert et sur le cœur on a fixé l'appareil enregistreur de Souchanoff (1). On a injecté sous la peau 0,05 de Delphocurarine.

La courbe des contractions ventriculaires est déjà modifiée, 15 minutes après l'injection de la Delphocurarine, comme le prouvent les tracés ci-joints.

On pouvait constater un ralentissement de la partie descendante de la courbe et une certaine diminution du nombre des battements cardiaques.

30 minutes après l'injection une forte modification de l'activité du cœur a été constatée.

Le nombre des contractions cardiaques est descendu à 23-24 par minute (2). La durée d'une battement a augmenté du double et la partie descendante de la courbe s'est fortement allongée. La hauteur des tracés des contractions du cœur a considérablement diminué par rapport à la normale, ce qui prouve la diminution d'énergie du muscle cardiaque (v. courbe n° 3).

On n'a pas constaté d'inhibition complète dans ce cas. Les réflexes étaient seulement fortement affaiblis (3).

Ainsi, dans ses qualités principales, la Delphocurarine de Heyl ne diffère en rien de la Delphinine de Dragendorff et de Marquis (4).

Comme on le sait la Delphinine provoque l'arrêt de la respiration après une courte période de dyspnée (Falck-Röhrig). Un même effet a été constaté par nous pour la Delphocurarine. La période de dyspnée n'a pas existé dans toutes les expériences. Parfois on avait directement la phase de l'affaiblissement progressif des mouvements respiratoires. Dans son action sur la fonction cardiaque et sur la pression sanguine, il y a également analogie complète entre les corps précités.

Le Delphinium abaisse également la pression sanguine, en affaiblissant le travail du cœur jusqu'à l'arrêt dans la diastole (Falck-Röhrig, Serck, Böhm). La seule différence entre nos expériences et les observations des autres auteurs sur l'action du Delphinium existe seulement dans ce fait que nous n'avons pas observé de stade d'excitation, surtout dans l'activité cardiaque.

Pour nous, ceci doit être attribué à la manière que nous avons

(1) Le levier n'est posé que sur le ventricule.

(2) Avant l'expérience il y avait 45—50 contractions par minute.

(3) L'animal ne retirait la patte que 1-2 sec. après qu'on l'avait pincé 2-3 fois.

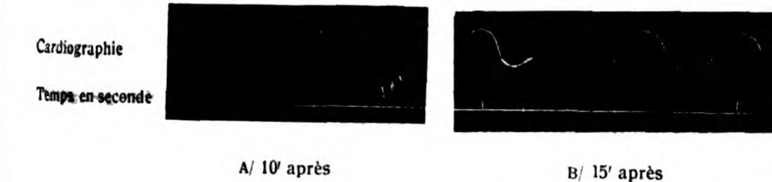
(4) Un alcaloïde cristallisable extrait du *Delphinium Staphisaria* dont la formule est $C^{44}H^{35}O^{12}$ Az ou $C^{62}H^{49}$ Az O^{14} d'après Carvallo.

Cardiographie

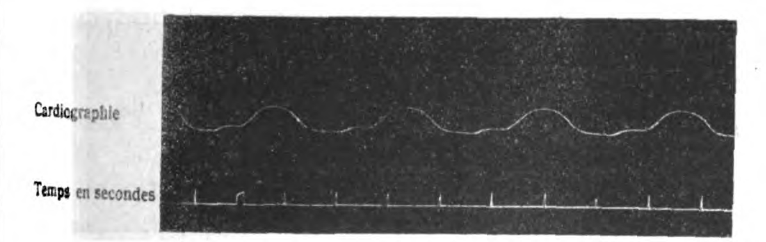
Temps en secondes

Normale

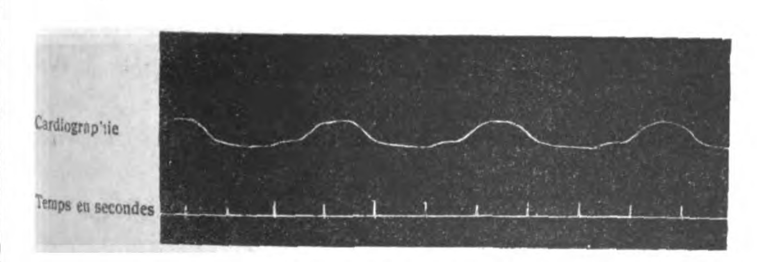
Après injections 0,05 de Delphocurarine



A/ 10′ après B/ 15′ après



C/ 30′ après



D/ 45′ après l'injection de Delphocurarine

Courbe 3.

employée pour conduire nos expériences, puisqu'elles n'étaient pas dirigées dans le but d'étudier en détail les différentes phases de l'action du corps étudié.

Nous ne nous décidons pas à formuler, en nous basant sur nos expériences, des conclusions définitives, mais nous tenons à faire remarquer l'action plus énergique sur le cœur de la préparation de Heyl par comparaison à la Delphinine.

Seulement Tamburini et Leone reconnaissent la Delphinine comme le poison cardiaque par excellence. Mais la plupart des auteurs admettent qu'elle est plutôt un poison nerveux, agissant sur le système nerveux central (Böhm, Serck et d'autres).

Nos expériences nous donnent quelque droit d'affirmer que la Delphocurarine est surtout capable d'agir directement sur le cœur, précisément sur ses fibres musculaires (1), comme la vératrine.

Quant à l'action de la delphocurarine sur le système nerveux périphérique, elle est la même que celle de la Delphinine.

Nous avons cité des expériences où pendant un état de paralysie complète on pouvait avoir la contraction d'un muscle par excitation du nerf centrifuge (2).

Ainsi la Delphocurarine de Lohmann, dans ses qualités principales, ne diffère en rien de la Delphinine de Dragendorff et Marquis, et n'ayant rien de commun avec l'action du curare certainement, ne peut pas remplacer ce dernier dans la technique physiologique.

Août 1907.

Littérature.

1. Böhm et Serck : Arch. f. exp. Path. und Pharm., V, 1876.
2. Falck et Röhrig : Arch. f. phys. Heilk., 1852 (cit. selon Ch. Richet).
3. Marquis : Arch. f. exp. Path. u. Pharm., VII. 1877.
4. Tamburini et Leone : Giorn. intern. d. sc. med., III, 1887 (cit. selon Ch. Richet).
5. Ch. Richet : « *Delphinine* », article dans Dict. de Physiol., t. IV, p. 772, 1900.
9. A. Lohmann : Pflüger's Archiv. Bd. 92.

(1) Du moins chez la grenouille.

(2) Le même effet a été obtenu par Lohmann. Pour la Delphinine ceci a été prouvé par M. Weyland et d'autres.

Istituto di Patologia e Clinica medica della R^a Università di Palermo
(Prof. L. Giuffrè)

Influenza delle sostanze emolitiche sugli scambi respiratori del fegato,

DI

A. PITINI.

In questi ultimi tempi le ricerche sulle variazioni della respirazione elementare dei tessuti sotto l'influenza dei farmacio in diverse condizioni sperimentali, hanno ricevuto un notevole impulso dai lavori di Tissot, Battelli, Lussana, etc.

Questi studi sono di un certo interesse perchè da essi è possibile trarre dei criteri sulle modificazioni delle combustioni nell'organismo vivente.

Io ho voluto ricercare come varia l'attività respiratoria dei tessuti sotto l'influenzà dei veleni emolitici, e ció perchè questi, modificando la struttura del sangue ed anche le proprietà dell'emoglobina, inducon un vero stato di asfissia interna o intraorganica.

L'argomento dei veleni ematici è non solo interessante dal punto di vista farmacologico, ma anche da quello patologico, poichè alla loroguisa agiscono alcuni veleni batterici.

Già fin dal 1901 (1) studiando l'influenza che i veleni emolitici spiegano sulle ossidazioni dei tessuti ebbi a notare che il potere ossidante di questi é assai diminuito per effetto della emolisi.

Lo studio degli scambi respiratori nell'emolisi non è nuovo, esso fu ampliamente fatto da Brauenstein, Danilewsky, etc. Quest'autore ad es osservo che l'abbassamento della temperatura animale, che nella stessa generalmente si nota, ossia il difetto di calorificazione, è la risultante della

(1) Archivio di Farmacologia e Terapeutica, 1901.

diminuzione dei processi di ossidazione per deficienza di ossigeno nel sangue.

Nulla però ho trovato nella letteratura riguardo al modo come si compie negli stati emolitici la respirazione elementare dei tessuti; e quindi ho praticate delle ricerche delle quali dò brevemente conto in questa nota preliminare.

Ad esse sono stato anche condotto da altri punti di vista, di cui mi sono a parte occupato nella lunga serie di ricerche (1) da me fatte sull'argomento della emolisi.

Traendo occasione dalle alterazioni che inducono nel fegato i veleni ematici, notate da RAVENNA e GENTILI (1), io ebbi in altri lavori (2) a notare che nell'emolisi diminuisce notevolmente o quasi scompare il glicogeno epatico (memtre diminuisce la percentuale in glucosio del sangue) e anche le altre funzioni epatiche l'ureogenetica, l'antitossica e la lipasica sono alterate.

Ora io ho voluto con le presenti ricerche accertare anche questo, se ed in quale rapporto tali risultati stanno con le eventuali modificazioni dei processi ossidativi, il che avrebbe non poca importanza, permettendoci di ricondurre ad unica origine tutti i diversi fenomeni che abbiamo studiato, sul che mi propongo di tornare in un prossimo lavoro d'insieme.

Ho cominciato queste esperienze col determinare gli scambi gassosi nel fegato anche perchè quest'organo ha un elevato potere respiratorio, superiore (secondo LUSSANA (3)) a quello stesso dei muscoli, a parte poi che esso è notevolmente colpito dai veleni ematici.

Ho adoperato per l'avvelenamento la fenilidrazina e come tecnica sperimentale ho seguito quella riferita da LUSSANA nel lavoro sulla respirazione dei tessuti di animali adulti e di embrioni, con tutte le cautele necessarie per avere risultati esatti. — Dipiù mi son giovato del cortese aiuto del Dr DI PIETRO, che lavora su questo argomento della respirazione elementare dei tessuti normali e patologici e che vivamente ringrazio.

Ho proceduto nell'avvelenamento nel seguente modo: Nei cani di taglia piccola, 5-6 kilogr. iniettai la fenilidrazina per via ipodermica, a giorni alterni, alla dose di 4 centigr. in 5 c.c. di acqua; nei conigli, di gr. 1500 in media, cominciai con l'iniettare per via ipodermica centigr. due di fenilidrazina cloridrato, e poi ogni tre giorni aumentai la dose di un centigrammo fino alla decima giornata. Quando l'avvelenamento era così progredito da far temere la morte dell'animale uccidevo questo per dissanguamento.

---

(1) Vedi questi Arch. vol. XIV fasc. III e IV; V e VI; e vol. XVI fasc. V e VI.
(2) Lo Sperimentale, vol. LVIII pag. 67.
(3) Archivio di Fisiologia, vol. III, fasc. I.

Nei cani normali per 10 gr. di organo e in sei ore ottenni :

O^2 assorbito c.c. 5.91
CO_2 eliminato » 4.81

—

O^2 assorbito c.c. 4.72
CO_2 eliminato » 5.84

Nei conigli normali per 10 gr. di organo e in sei ore :

O^2 assorbito c.c. 6.93
CO^2 eliminato » 5.15

—

O^2 assorbito c.c. 6.73
CO_2 eliminato » 5.30

Nei cani avvelenati con fenilidrazina per 10 gr. di fegato, in sei ore :

O^2 assorbito c.c. 4.61
CO_2 eliminato » 3.29

—

O^2 assorbito c.c. 4.52
CO_2 eliminato » 3.19

e nei conigli :

O^2 assorbito c.c. 5.66
CO_2 eliminato » 3.34

—

O^2 assorbito c.c. 5.53
CO_2 eliminato » 2.15

Ponendo in confronto i valori medi ottenuti negli animali avvelenati con quelli che si hanno in condizioni normali risulta che la fenilidrazina abbassa considerevolmente gli scambi gassosi del fegato.

Ora si sarebbe tentati a mettere in rapporto tale abbassamento con la diminuzione della funzione glicogenetica e con le alterazioni delle altre funzioni del fegato che abbiamo trovato nelle nostre precedenti ricerche, pure come effetto dell'emolisi.

Gli studi di LUSSANA però, fatti sotto la guida dell'Illmo Prof. ALBERTONI, tendono ad escludere che ci sia un rapporto diretto tra le variazioni del quoziente respiratorio del fegato e la funzione glicogenetica: perciò su questo complesso problema mi riservo come ho detto, di eseguire ulteriori ricerche, prima di venire ad una conclusione definitiva.

Octobre, 1907.

AUS DEM PHARMAKOLOGISCHEN INSTITUT IN ZÜRICH
(DIR. PROF. Dr CLOETTA).

Ueber den Wirkungswert der folia digitalis, seine Bestimmung und seine Veränderung,

VON

S. LUTZKAJA.

Es ist eine von allen Seiten unbestrittene Tatsache, dass die *folia digitalis* und ihre Präparate sehr grossen Schwankungen in Bezug auf den Wirkungswert unterliegen und es ist daher auch sehr naheliegend gewesen nach Mitteln zur Abhülfe dieses fühlbaren Mangels zu suchen. Es sind zu diesem Zwecke im allgemeinen 2 Wege eingeschlagen worden : 1) die chemische Prüfung resp. die Bestimmung des Digitoxingehaltes, und 2) die physiologische Prüfungsmethode. Um die Letztere hat sich wohl weitaus am meisten FOCKE (1) verdient gemacht und durch Ausbildung seiner Methode sieht er sich in Stand gesetzt den Giftwert eines Digitalispräparates ziemlich genau zu bestimmen. Bevor FOCKE seine ausführliche Arbeit (Arch. d. Pharmac.) herausgegeben hat sind von MOSCHKOWITSCH (2) ähnliche Versuche gemacht worden, wobei jedoch das Resultat bezüglich der Zuverlässigkeit des Froschversuches für die Wertbestimmung sich als ganz ungenügend erwies. FOCKE hat dann bei der Versuchsanordnung von MOSCHKOWITSCH die zu kleinen Dosen bemängelt und verlangt, dass die Dose so gross genommen werden müsse, dass der Stillstand des Herzens innert 7-15 Minuten erfolge. Er geht nun so vor, dass einem Frosch 1/50 seines Gewichtes von einem 10 proc. Blätterinfus in den Schenkellymphsack injiciert wird und aus dem Zeitpunkt des Eintrittes des Stillstandes wird nach der Formel V (Giftwert) $= \frac{p}{t.\ d:}$ (Froschgewicht) wobei t die Zeit bis zum Herzstillstand,

(1) FOCKE : Archiv der Pharmacie 1904, Vierteljahrsschrift für gerichtl. Med. öffentl. Sanitätspflege 3 T. XXXII ; Berl. klin. Wochenschr. 1906.

(2) MOSCHKOWITSCH : Archiv der Pharmacie, B. 241, 1903.

d die Dosis bedeutet der Wirkungswert der betreffenden Lösung bestimmt. Ferner macht FOCKE darauf aufmerksam dass nur Frösche der Monate Juli, August u. September verwendet werden sollen. Diese Methode von FOCKE ist entschieden vorzuziehen denjenigen, die basieren auf der Ermittelung der Mindestdosis die innerhalb 1 std. noch den Stillstand des Herzens herbeiführt, da bei diesem Vorgehen die Werte viel zu ungenau werden. Es ist daher auch möglich dass bei den Versuchen von MOSCHKOWITSCH die Dosen teilweise zu klein waren, und es erschien mir deshalb richtig diese Angelegenheit namentlich mit Rücksicht auf die Neubearbeitung der schweizer. Pharmacopoe nochmals eingehend zu prüfen. Ich habe mich in allen Teilen strenge an die FOCKE'schen Forderungen gehalten, nur bezüglich des Tiermaterials war mir das nicht möglich, weil hier im Juli u. August keine Frösche zu erhalten sind. Auch an den Abhängen des Zürichberges gelang es trotz tagelangem Suchen nur selten 1 Exemplar aufzufinden. Da es sich aber um grössere Mengen von Tieren handelte so musste bis im September und Oktober gewartet werden mit der Einbringung der Tiere; denn für unsere Verhältnisse konnte doch nur die Jahreszeit massgebend sein, wo es allgemein leicht gelingt sich das Versuchsmaterial zu beschaffen. Zur Beantwortung habe ich mir folgende Fragen vorgelegt :

1/ Reagieren tatsächlich verschiedene Frösche auf dasselbe Präparat so genau, dass aus der Reactionszeit der Wirkungswert erschlossen werden kann.

2/ Wie verhält sich der physiologische Wirkungswert der Blätter verschiedener Provenienz zu ihrem Digitoxingehalt.

3/ Was für Momente sind massgebend für die Veränderung des Wirkungswertes in den Blättern.

Zur Entscheidung der ersten Frage erschien es mir am richtigsten von genau dosierten Digitalispräparaten auszugehen. Es wurde einer Reihe von Fröschen aus dem Monat September je 0.5 mg. Krystallisiertes Digitoxin in 50 % Alkohol gelöst in die Schenkellymphsäcke eingespritzt. Als Beispiel dienen folgende Resultate:

Versuch I.

Gewicht des Frosches	Herzstillstand	Dosis	Giftwert V
42,3 gr.	11 minuten	0.5 mg.	7.0
45.9 »	11 »	Digitox. cryst.	8.3
38.7 »	21 »		3.7
42.0 »	24 »		3.6
44.5 »	20 »		5.4
54.0 »	25 »		2.9
40.0 »	44 »		1.9
46.2 »	30 »		3.0
			4.5

Bei diesen Versuchen war also zunächst keine Rücksicht auf das Gewicht der Tiere genommen worden, sondern alle hatten dieselbe Dosis bekommen; die Resultate sind nicht befriedigend obwohl die Gewichte der Tiere doch wenig schwanken.

Nun bin ich in den weiteren Untersuchungen in der Weise vorgegangen, dass ich zuerst die Dosis bestimmte, die in ca. 10 minuten den Stillstand herbeiführt und hierauf erhielten die folgenden Tiere die im Verhältniss zu ihrem Gewicht genau bestimmte Dosis, wobei die bei den ersten Versuchen ermittelte Dosis als Rechnungsbasis diente.

In der angedeuteten Weise wurde also in der fogenden Versuchsreihe die 0.3 °/₀₀ Lösung von Digitoxin injiciert:

Versuch II.

Gewicht des Frosches	Herzstillstand	Dosis	Giftwert V
34.8 gr.	8 minuten	1.1 c.c.	3.9
38.5 »	11 »	1.2 »	2.9
39.0 »	12 »	1.2 »	2.5
42.8 »	12 »	1.3 »	2.7
44.5 »	12 »	1.4 »	2.6
39.0 »	14 »	1.2 »	2.3
32.5 »	14 »	1.0 »	2.3
38.6 »	15 »	1.2 »	2.1
38.9 »	16 »	1.2 »	2.0
			2.5

Es ist also auch hier nicht gelungen constante Zahlen zu erhalten, denn man muss doch berücksichtigen, dass einzelne Werte bis auf 80 °/₀ differieren; berücksichtigt man aber den Gehalt an Digitoxin dieser Versuchsreise mit der vorgehenden und die erhaltenen Werte, so verhalten sich die Zahlen wie 0.5 : 0.3 = 4.5 : 2.5. Also trotz den starken Schwankungen der einzelnen Werte erhält man im Durchschnitt doch eine dem Gehalt ungefähr entsprechende Veränderung des Wirkungswertes. Das gleiche Resultat wurde in einer weiteren Versuchsreihe erhalten, bei welcher ebenfalls 0.3 °/₀₀ Digitoxin lösung verwendet wurde mit 0,6 °/₀ Kochsalz versetzt:

Versuch III.

Gewicht des Frosches	Herzstillstand	Dosis	Giftwert V
40.5 gr.	10.5 minuten	1.2 c.c.	3.2
32.5 »	11.5 »	1 »	2.8
33.0 »	12 »	1 »	2.7
31.0 »	12 »	0.9 »	2.8
25.5 »	15 »	0.8 »	2.1
29.0 »	16 »	0.9 »	2.0
			2.6

Auch hier haben wir unter den einzelnen Versuchen Differenzen bis 65 % und trotzdem ergibt die Gesammtsumme ein identisches Resultat mit Versuch II. Es scheint demnach dass man bei genügend zahlreichen Versuchen trotz den Bedenken erregenden Einzelschwankungen zu brauchbaren Resultaten gelangen kann. Wenn FOCKE noch wesentlich bessere Resultate erhalten hat, so liegt das offenbar an besonderen Verhältnissen seines Tiermaterials; es können dieselben also schon aus diesem Grunde nicht verallgemeinert werden. Mit Rücksicht auf die Einführung dieser Prüfungsmethode in die Pharmacopoe muss man sich fragen : Wie verhalten sich diese Werte bei Prüfung der Drogue? Ich habe, um ebenfalls eine dosierte Grösse zu verwenden zuert die *folia titrata* C. u. L. Giftwert V = 5 geprüft :

Versuch IV.

Gewicht des Frosches	Herzstillstand	Dosis 10 % Infus.	Giftwert V
35.6 gr.	10 minuten	1 c.c.	3.5
26.5 »	12 »	0.6 »	3.6
27.0 »	12 »	0.6 »	3.7
31.5 »	14 »	0.8 »	2.8
32.0 »	17 »	0.8 »	2.3
57.8 »	13 »	1.2 »	3.6
			3.2

Der mit unseren September-Fröschen erhaltene Giftwert V = 3,2 stimmt also keineswegs mit dem von der Firma ermittelten V = 5 überein. Wenn demzufolge Tiere verschiedener Länder so erhebliche Differenzen gegenüber denselben Blättern aufweisen, so dürfte es sich dringend empfehlen Blätter stets nur von der gleichen Firma zu beziehen, die immer mit demselben Tiermaterial arbeitet, sonst könnte man wohl unter demselben Wert fur V Blätter mit erheblich verschiedener Giftwirkung erhalten. In dieser Hinsicht erscheint die Bezeichnung *folia titrata* sprachlich nicht ganz einwandfrei. Damit will ich in keiner Weise den Verdiensten von FOCKE um diese Frage zu nahe treten, deren Hauptgewicht wohl in der Aufstellung der Forderung der Tröcknung der Blätter zu erblicken ist und in dem Verdienst das Interesse für diese Frage wachgerufen zu haben. Das experimentelle Material zu diesen Bemerkungen ist nicht etwa nur aus den vorstehenden Versuchen entnommen, sondern es dienten dafür alle die Zahlreichen nachfolgenden Versuche ebenfalls als Beleg, die unternommen wurden um die Beziehungen von Wirkungswert zum Digitoxingehalt der Blätter festzustellen. Da es unmöglich ist alle die ca. 400 Einzelversuche, die ich ausführte tabellarisch zu reproducieren, so gebe ich von jetzt an immer nur die Endresultate wieder.

Um einen Masstab zu erhalten über die Beziehung von Digitoxingehalt zum Wirkungswert der Blätter habe ich den Quotienten $\frac{W = \text{Wirkungswert}}{D = \text{Digitoxingehalt}}$ aufgestelt. Bei der Digitoxinbestimmung wurde die Bleifällung vermieden, weil diese die Resultate zu sehr stört; man erhält bei Vermeidung jeder Spur von Alkohol auch ohne Blei fast farblose Lösungen, die dann viel bessere Werte ergeben. Selbstverständlich wurde für die Digitoxinbestimmung stets dasselbe Infus benutzt, das auch zu den Tierversuchen Verwendung gefunden hatte. Es erschien mir ferner interessant festzustellen inwieweit eine verschiedene Art der Herstellung des Infuses dessen Wirkungswert und Digitoxingehalt beeinflusse. Zu diesem Zweck wurden von der Blättersorten zuerst in der ueblichen Weise die 10 % Infuse hergestellt; dann wurde in einer 2 Serie das Blätterpulver zuerst mit 70 % Alkohol reichlich angefeuchtet und verschlossen 12 Stunden stehen gelassen und hierauf erst die Infusion hergestellt.

Versuch V und VI.

Alte Blätter aus dem Jahre 1904 ergeben einen Wirkungswert von 1.3; das verwendete Infus enthält 0.12 ‰ Digitoxin: somit eine sehr geringe Wirkung bei niedriegem Gehalt, Quotient = 1.0.

Dieselben Blätter 12 Stunden mit Alkohol angefeuchtet und dann infundiert ergeben Wirkungswert = 2.36. Digitoxingehalt = 0.24 ‰ des Infuses. Quotient also wiederum 1.0 d.h. bessere Wirkung bei grösserem Gehalt an Digitoxin.

Versuch VII.

Blätter von Kaiserberg. gesammelt Juni 1906. Es wurde ein Wirkungswert beim wässrigen Infus (20 Minut.) von 2.15 gefunden, ein Digitoxingehalt von 0.2 ‰. Quotient = 1.0.

Versuch VIII.

Dieselben Blätter wurden zuerst mit 70 % Alkohol befeuchtet 12 Stunden stehen gelassen, dann das Infus wie gewohnt hergestellt u. geprüft: Wirkungswert = 2.4, Digitoxingehalt = 0.27 ‰. Quotient 0.9.

Versuch IX.

Blätter aus Bad Sulzburg im Schwarzwald; gesammelt Ende Juli kurz vor Blüte 1906. Getrocknet, gemahlen und Infus 20 Minuten erwärmt. Wirkungswert = 2.2, Digitoxingehalt des Infuses = 0.36 ‰, Quotient = 0 6.

Versuch X.

Dieselben Blätter aber zuerst 12 stunden mit 70 % Alkohol angefeuchtet stehen lassen; dann aufkochen u. 20 Minuten infundieren: Wirkungswert = 2.0 Digitoxingehalt = 0.33 ‰, Quotient = 0.6.

Versuch XI.

Blätter aus Ost-Thüringen gesammelt in August 1906, getrocknet; gemahlen und 20 Minuten Infus. Wirkungswert = 2,5, Digitoxinbestimmung misslungen.

Versuch XII.

Dieselben Blätter zuerst 12 stunden mit 70 % Alkohol angefeuchtet stehen gelassen, dann 1 Stunde gekocht: Wirkungswert = 2.8, Digitoxingehalt = 0.27 ‰, Quotient = 1.0.

Versuch XIII.

Blätter C. und L., ganze Blätter, aus dem Harz, gesammelt in August 1906, getrocknet, gemahlen und Infus. 20 Minuten erwärmt; Wirkungswert = 2.0, Digitoxingehalt = 0.24 ‰, Quotient = 0.8.

Versuch XIV.

Blätter aus Osterode-Ostpreussen, gesammelt Ende August 1906, getrocknet; gemahlen und Infus 20. Minuten erwärmt: Wirkungswert = 2.1, Digitoxingehalt = 0.25 ‰, Quotient = 0.8.

Versuch XV.

Dieselben Blätter mit 70 % Alkohol angefeuchtet 12 stunden stehen gelassen dann 1 Stunde gekocht: Wirkungswert = 2.5, Digitoxingehalt 0.21 ‰, Quotient = 1.0.

Versuch XVI.

Blätter aus Klingenthal-Vogesen in Juli 1906 gesammelt, gemahlen und 20 Minuten infundiert: Wirkungswert = 1.3, Digitoxingehalt = 0.15 ‰, Quotient = 0.8.

Versuch XVII.

Dieselben Blätter mit 70 % Alkohol angefeuchtet 12 Stunden gelassen, dann wie gewöhnlich Infus hergestellt: Wirkungswert = 1.9 in einer Versuchsreihe, in einer anderen 2.0, Digitoxingehalt = 0.30 ‰, Quotient 0.63 - 0.66. —

Stellen wir die erhaltenen Resultate mit Rucksicht auf den Quotienten zusammen, so ergiebt sich Folgendes:

ohne Alkohol			mit Alkohol		
Versuch V	Quotient =	1.0	Versuch VI	Quotient =	1.0
Versuch VII	» »	1.0	Versuch VIII	» »	0.9
Versuch IX	» »	0.6	Versuch X	» »	0.6
Versuch XIII	» »	0.8	Versuch XII	» »	1.0
Versuch XIV	» »	0.8	Versuch XV	» »	1.0
Versuch XVI	» »	0.8	Versuch XVII	» »	0.65
		0.83			0.86

Wir bekommen somit für diese Grösse d. h. also die Beziehung Wirkungswert : Digitoxingehalt ziemlich constante Werte. Es ist auch

auffallend dass bei den verschiedenen Blättersorten der Einfluss der vorgängigen Alkoholbefeuchtung sich durchaus nicht gleichwertig erwies, indem bei den einen Blättersorten sich eine leichte Vermehrung des Digitoxingehaltes hierdurch ergab, bei anderen nicht; einmal sogar eine Verminderung. Im Allgemeinen hat man den Eindruck, dass bei *guten* Blättern das Infundieren mit Wasser vollkommen genügt um die volle Wirkung zum Ausdruck zu bringen und dass auf diese Weise auch genügend Digitoxin in Lösung gehe.

Da ich nun eine ziemlich constante Beziehung zwischen Wirkungswert u. Digitoxingehalt bekommen habe, so war die weitere Frage zu prüfen : wie verhalten sich diese Werte im Vergleich zu denen, bei welchen reines Digitoxin angewendet worden war, wo also die Complication der Einwirkung anderer Substanzen ganz ausgeschaltet ist; denn es ist ja immer noch eine viel umstrittene Frage, ob und in welchem Umfang neben dem Digitoxin noch andere Substanzen mit für die Wirkung in Betracht kommen. Hierauf geben die ersten 3 Versuche Antwort; wir erhalten dort als Quotienten bei I o.8; bei II o.8; bei III o.8.

Vergleichen wir diese Zahlen mit denen, welche wir bei der Prüfung der verschiedenen Blättersorten haben, so ergibt sich bei der reinen Substanz Quotient = o.8, bei den Blättern Q = o.8.

Es stimmen also diese Quotienten recht gut überein, und man könnte dadurch veranlasst werden zunächst den Schluss zu ziehen, dass bei den untersuchten Blättern der Digitoxingehalt annähernd dem Wirkungswerte entspricht, somit also auch diesen alleine bedinge. Dieser Schluss erscheint mir aber a priori nicht gerechtfertigt; wir müssen bedenken dass bei den kleinen Zeiträumen die wir nach Focke als massgebend zugelassen haben, unmöglich schon die ganze Giftmenge jeweils resorbirt sein kann. Es ist also jedenfalls der Wirkungswert d. h. der Zähler des Quotienten sehr abhängig von der Schnelligkeit der Resorption und damit kann das Verhältniss sich ganz erheblich verändern. Zweifelsohne wird ein schwächeres Präparat z. B., das leichter resorbirt wird im Froschversuch einen grösseren relativen Wirkungswert ergeben als ein stärkeres mit erschwerter Resorption. Dies lässt sich deutlich z. B. am Digalen nachweisen.

Wie schon Focke (1) u. Loewy (2) angegeben entspricht die Wirkung bei diesem Präparat nicht dem Digitoxingehalt. Ich erhielt bei gewöhnlicher käuflicher Digalenlösung einen Wirkungswert von 1.4 während nach obigen Digitoxinversuchen derselbe ca 2.5 hätte betragen sollen, da die Digalenlösung o,3 $^{0}/_{00}$ Digitoxin enthält. Wurde nun aber die Digalen-

(1) Focke : Berlin. klin. Wochenschr., N° 20; 1904.
(2) Loewy : Wiener klin. Wochenschrift, N° 39, 1904.

lösung anstatt mit 25 % Glycerinzusatz nur mit Wasser + 4 % Glycerin hergestellt, so ergab sich ein Wirkungswert von 2.3 d. h. ein Wert der fast übereinstimmt mit dem des krystallinischen Digitoxins.

Dieselben Resultate erhält man wenn zu einer Lösung von krystallinischen Digitoxin 25 % Glycerin zugesetzt wird; es ergibt sich dann ebenfalls eine erhebliche Verzögerung der Wirkung, bedingt durch den Glycerinzusatz.

Da nun beim Infus gleichzeitig mit dem Digitoxin auch eine Reihe colloider Substanzen und anderer Körper zugeführt werden, die die Resorption beeinflussen, so mussten diese Verhältnisse zuerst noch geprüft werden. Ich habe zu diesem Zwecke einem Infus durch intensives Ausschütteln mit Chloroform die wirksamen Substanzen entzogen bis das Präparat beim Froschversuch im Verlauf 1 Stunde keinen Herzstillstand mehr hervorrief. Dann wurde in diesem Infus 0.3 ‰ Digitoxin aufgelöst und mit diesem Präparat wurden die obigen Versuche wiederholt. Dabei ergab sich nicht wie zu erwarten gewesen eine Uebereinstimmung zu den früheren Versuchen mit wässriger und alkoholischer Digitoxinlösung, sondern eine Verminderung des Wirkungswertes um ca. 38 %.

Wir dürften also, immer die zuverlässigkeit des quantitativen Froschversuches vorausgesetzt, annehmen dass ein Infus bei welchem als wirksame Substanz wirklich nur Digitoxin vorhanden wäre eine etwas schwächere Wirking beim Frosch ergeben müsste, als die entsprechende reine Digitoxinlösung. Wenn daher in unseren obigen Versuchen bei den Infusen der Quotient aus Wirkungswert : Digitoxingehalt derselbe war wie bei den reinen Lösungen von Digitoxin so folgt daraus, dass diese scheinbare Uebereinstimmung nur dadurch zu stande kommen kann, dass eine andere Substanz, die bei der Digitoxinbestimmung nicht in Rechnung gesetzt wurde, bei der Wirkung am Froschherzen mitbeteiligt ist, und ihrerseits den verzögernden Einfluss des Infuses compensiert hat. Es wären somit ca. 62 % der Wirkung des Infuses beim Frosch als durch das Digitoxin bedingt anzusehen. Es wäre nun selbstverständlich sehr wünschenswert zu erfahren wie in dieser Hinsicht sich der Mensch verhält, d. h. ob bei ihm ebenfalls dieser Bruchteil der Wirkung des Infuses, ca. 38 %, auf andere Substanzen als das Digitoxin zu beziehen ist.

Da diese Frage sich nie durch directe Versuche wird lösen lassen, ist man auf einen Umweg angewiesen. Ich wählte unter den anderen Digitalissubstanzen die wirksamste nach dem Digitoxin, das Digitalinum verum, ueber dessen Wirkung am Menschen man bereits orientiert ist und erhielt bei der Prüfung am Frosch folgende Werte :

0,6 ‰ Lösung von Digitalinum verum in 20 % Alkohol : Wirkungswert = 1.7 somit Quotient = $\frac{W}{D}$ = 2.8.

Bei Anwendung einer 1 °/oo Lösung von Digitalinum verum — Wirkungswert = 2.1 somit Quotient = 2.1.

Vergleichen wir nun diese Wirkungswerte mit denen bei reinem Digitoxin erhaltenen so ist bei einer 0,3 °/oo Digitoxinlösung als Mittel ca 2,5 anzunehmen, somit wäre für 0.6 °/oo ca 5.0 einzusetzen u. es ergibt sich somit für Digitalinum verum eine ca 3mal schwächere Wirkung auf das Froschherz als für das Digitoxin; der Quotient mit 0.8 bei Digitoxin beträgt im Mittel bei Digitalinum verum 2.4. Es ist also auch dieser Wert ca 3 mal geringer ausgefallen.

Wie verhält sich nun das Digitalinum verum beim Menschen? Wir wissen durch die Untersuchungen von KLINGENBERG (1), dass bei einer Tagesdosis von 0.01 gr. meist wenig oder nichts therapeutisch erreicht wurde, während wir mit 1 mg. Digitoxin einen vollen Erfolg zu erziehen pflegen; es ist somit der Wirkungswert des Digitalinum verum *beim Menschen* als mindestens *10 mal* geringer anzuschlagen gegenüber dem des Digitoxins. Der Unterschied in der Wirkung zwischen Digitoxin und Digitalinum ist also beim Menschenherz fast 4 mal grösser als beim Froschherz. Es müssten somit andere Substanzen in sehr grosser Menge vorhanden sein, bis sie die Digitoxinwirkung beim Menschen beeinflussen könnten.

Aus diesen Tatsachen dürfen wir den Schluss ziehen, dass die fehlenden 38 °/o des Wirkungswertes des Infuses, die beim Froschherzen nicht auf Rechnung des Digitoxins gesetzt werden können, beim Menschen sicher nicht in gleicher Weize zu rechnen sind, u. es würden nach Analogie des Digitalinum verum wohl höchstens 10 °/o der Gesamtwirkung des Infuses beim Menschen als nicht durch Digitoxin bedingt anzunehmen sein. Man darf diese Rechnungsweise um so eher acceptieren, als zur Basis derselben ja der nach dem Digitoxin wirksamste Digitaliskörper, das Digitalinum verum gewählt wurde; beim Digitaleïn wäre die Wirkung eine noch schwächere. Da es nun sehr wohl möglich ist, dass bei einer Blättersorte zufällig einmal diese anderen Substanzen etwas reichlicher vorhanden sind, dagegen weniger Digitoxin, so würde man, am Froschherzen gemessen, einen genau gleichen Wirkungswert erhalten können wie bei reichlichem Digitoxingehalt u. Fehlen der anderen Substanzen. Diese beide Sorten Blätter würden sich aber bei der Wirkung am Menschen ganz verschieden verhalten und hauptsächlich von diesen Erwägungen aus erscheint mir der Froschversuch als Mittel den therapeutischen Wirkungswert der Blätter festzustellen ungeeignet.

Ich habe nun weiter noch versucht zu prüfen in welcher Weise eine

(1) KLINGENBERG: Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. XXXIII.

Aenderung des Wirkungswertes der Blätter eintreten kann. Wir haben gesehen, dass die verschiedenen Blättersorten sich verschieden verhalten in Bezug auf die Digitoxinabgabe an wässerige u. alkoholische Lösungen. Es kann also eine Blättersorte relativ reich sein an Digitoxin, aber sie giebt dasselbe schwer ab an Wasser; dann ist das Infus relativ unwirksam, trotz dem Digitoxingehalt der Blätter; dieser Fall scheint besonders bei alten Blättern einzutreten. Diese Differenzen hängen offenbar von besonderen Eigentümlichkeiten des Pflanzenchemismus ab; es liegt nahe anzunehmen dass die Beschaffenheit des Digitoxins in den Blättern eine verschiedene sein kann, dass man es also mit einem fliessendem Zustand zu tun habe, dessen verschiedenen Phasen sehr wahrscheinlich auch verschiedene pharmakologische Wirkungen entsprechen. Es ist nun sehr naheliegend anzunehmen, dass das Digitoxin in den Blättern Veränderungen ausgesetzt ist, die neben seiner Wirkungsweise namentlich auch seine Löslichkeitsverhältnisse beeinflussen.

Je vollständiger das Digitoxin in ein Infus übergeht, um so weniger verändert dürfte der für die therapeutische Wirkung günstigste Zustand desselben sein; je schwerer löslich, um so mehr ist man zur Annahme berechtigt, das hier schon irgend welche Verschiebungen eingetreten sind. Diese letzteren können sich entweder intramolekülär im Digitoxinmolekül selbst abspielen, oder sie können beruhen in Veränderungen der kuppelungsverhältnisse des Digitoxins. Das krystallisierte Digitoxin wird deshalb voraussichtlich auch nie völlig übereinstimmen mit der Wirkung einer ganz frischen Blättersorte weil dabei die active Substanz sich in verschiedenen Zustandsphasen befindet. Diese gewiss wichtigste Veränderung des Wirkungswertes wird sich kaum je mit Sicherheit analytisch defiinieren lassen.

Leichter dürfte es sein eine Veränderung der Wirkungsintensität des Infuses zu verfolgen, auf die zuerst Löwy (1) aufmerksam gemacht hat. Er wies nach, dass das Infuss durch Säureeinfluss seine Wirkung schon in 2 Tagen fast ganz einbüssen kann. Um welchen Vorgang handelt es sich dabei? Schüttelt man ein frisches Infus mit Chloroform, so erhält man mit dem Chloroformrückstand bei der Keller-Killiani'schen Reaction eine rote Zone, darüber den schwarzen Ring und schöne blau-grüne Färbung des Eisessigs. Lässt man dieses Infus unter Zusatz von 2 Tropfen HCl auf 20 c.c. 3 Tage stehen u. schüttelt wieder aus so erhält man einen roten Ring der wesentlich stärker geworden ist als früher, und nur eine geringe Blaufärbung. Es findet also unter der Säureeinwirkung eine Spaltung des Digitoxins statt, die die Ursache der Unwirksamkeit ist. Genau dasselbe Resultat erhält man bei Digitoxinum crystallisatum u. bei Digalen. Auch

---

(1) Löwy: l. c.

hier verschwindet bei HCl zusatz unter stehenlassen im Brutschrank die characteristische Reaction; an Stelle des normal fast fehlenden roten Ringes tritt eine breite rote Zone; Infus sowohl als Digitoxinlösung welche diese Farbenveränderungen darboten erwiesen sich als unwirksam. Was ist dieser Vorgang? Wahrscheinlich eine Spaltung des Digitoxins in Toxiresin-Digitoxigenin einerseits u. Digitoxose anderseits, denn das Toxiresin SCHMIEDEBERG's (1) gibt genau dieselbe Reaction.

Von dem ersteren wissen wir dass es ein centrales Nervengift ist und es könnte sich hier ein neuer Gesichtspunkt in der Digitalisfrage auftun. Diese Veränderungen können vielleicht Vergiftungserscheinungen auslösen, die mit der eigentlichen Digitaliswirkung nichts mehr zu tun haben; die ihrerseits aber sehr wohl beitragen können zur Entstehung des Symptomencomplexes den man als Cumulation bezeichnet. Auch folgende Beobachtung scheint mir in diesem Zusammenhang von Bedeutung : wenn man sehr viel Blättersorten untersucht, so kann man häufig constatieren, dass beim Ausschütteln der Infuse mit Chloroform die rote Zone sich sehr verschieden intensif gestaltet; das würde darauf hin deuten, dass auch schon in den Blättern selber mitunter diese Zersetzungsproducte vorhanden oder wenigstens diesen analoge Veränderungen eingetreten sein können, womit die oben entwickelte Ansicht, dass der Zustand des Digitoxins in den Blättern ein wechselnder sein könne, in Einklang stände.

Alle diese erwähnten Veränderungen können wir natürlich mit den Froschversuch nicht mehr fassen; hier kann höchstens noch eine chemische Prüfung Aufschluss erteilen. Ob dieselbe aber so einfach gestaltet werden könnte, dass si Z. B. zur Prüfung in der Pharmakopoe sich eignen würde erscheint mir zweifelhaft.

August, 1907.

(1) SCHMIEDEBERG, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. B. III.

LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DE MONTPELLIER.

L'élimination urinaire des formiates

(Note complémentaire),

PAR

M. C. FLEIG.

Au cours d'un travail publié précédemment dans ces *Archives* (1), j'ai étudié les transformations des formiates dans l'organisme et leur élimination par l'urine. La présente note a uniquement pour but de rappeler avec quelques détails les diverses recherches qui avaient été faites sur ce sujet et dont certaines avaient été omises dans la bibliographie de mon mémoire.

WÖHLER le premier a indiqué que les sels des acides gras en général devaient être plus ou moins facilement brûlés dans l'organisme et éliminés sous forme de carbonates dans les urines. Mais il admettait que *ces acides eux-mêmes, administrés à l'état libre,* se combinaient à des bases et s'éliminaient *en nature* au niveau du rein.

BUCHHEIM (2) et ses élèves au contraire ont montré qu'il n'y a *pas de différence essentielle dans leur façon de se comporter à travers les tissus, qu'il soient libres ou sous forme de sels:* dans l'un et l'autre cas, une plus ou moins grande partie se soustrait à l'oxydation et passe telle quelle dans les urines.

Pour l'acide formique en particulier, BYASSON (3) (1872), au cours d'une étude sur l'action physiologique de l'éther formique, put démontrer

(1) *Étude physiologique de quelques composés formiques (acide formique, formiates, aldéhyde formique)*, XVII, 1907, 147-230.

(2) BUCHHEIM : *Ueber den Uebergang einiger organischen Säuren in den Harn.* Archiv. für physiol. Heilk. N. F. I, 1857, 122.

(3) BYASSON : *Sur l'action physiologique de l'éther formique.* C. R. LXIV, 1872, 1202.

que l'acide formique produit dans l'organisme sous l'influence des carbonates alcalins du sang apparaît dans l'urine *à l'état de formiate alcalin.*

RABUTEAU (1) (1875) a constaté sur lui-même la transformation du formiate de soude en bicarbonate de soude, ses urines étant devenues alcalines à la suite de l'ingestion de 5 à 6 gr. de ce sel. Il conclut que *dans l'économie les formiates se transforment en bicarbonates* et que *l'acide formique est brûlé.*

SCHOTTEN (2) (1883) a eu le mérite de démontrer que *les acides gras volatils des premiers termes de la série, pauvres en carbone, résistent mieux à l'oxydation intra-organique que les acides ayant un nombre d'atomes de carbone plus élevé :* ils passeraient en effet en majeure partie dans l'urine sans éprouver de décomposition. Après l'ingestion de 20 gr. de formiate de soude par exemple, il a retrouvé dans ce produit d'excrétion **26** % de la quantité administrée.

GRÉHANT et QUINQUAUD (3) (1887) trouvent chez le chien qu'à la suite de l'ingestion stomacale de 5 gr. de formiate de soude il s'est éliminé au bout de 3 jours 3,37 gr. de sel dans les urines et après l'injection de 4 gr. dans la jugulaire on retrouva au bout de 4 jours 2,49 gr. du même sel : c'est-à-dire **60** à **70** % du sel introduit.

Pour PELLACANI, (4) le formiate de soude, injecté à des chiens dans

(1) RABUTEAU : *Éléments de thérapeutique et de pharmacologie*, 1875, p. 274.

(2) SCHOTTEN : *Ueber die flüchtigen Säuren des Pferdeharns und das Verhalten der flüchtigen Fettsauren im Organismus.* Zeitschr. f. physiol. Chemie, 1883, VII, 375-383.

(3) GRÉHANT et QUINQUAUD : *Que deviennent les formiates introduits dans l'organisme ?* C. R., 1887, CIV, 437-439. Arch. de physiol., 1887.

Nous avons indiqué dans notre mémoire précédent la méthode de dosage des formiates dans l'urine dont se servaient Gréhant et Quinquaud : 1° distillation de l'urine en milieu sulfurique ; 2° neutralisation du liquide de distillation ; 3° décomposition par l'acide sulfurique du formiate ainsi produit et dosage du CO dégagé.

(4) P. PELLACANI : *Sopra alcune condizioni di auto-intossicazione acida dell'organismo ed alcuni suoi effeti specialmente considerati.* Genova, tipografia del R. Istituto sordi-muti, 1887. Bolletino R. Academia medica di Genova. 1887. — *Ricerche ulteriori sopra alcune condizioni di auto-intossicazione acida dell'organismo.* Terapia moderna, 1890 (Ref. in Hermann-Schwalbe, Jahresber. 19, 2, 453, 1890).

Le procédé de Pellacani pour doser l'acide formique dans les milieux organiques est le suivant. — Il utilise la réaction de l'acide sulfurique sur les formiates, qui fournit une quantité d'oxyde de carbone correspondant exactement à la quantité théorique si l'on a soin d'opérer sur des extraits suffisamment concentrés et sur des sels purs et de composition bien connue. On procède comme il suit pour recueillir et mesurer ce gaz.

On met une quantité déterminée du liquide à examiner dans une tube à parois épaisses, long de 12 à 15 cmc. Dans ce tube on introduit une éprouvette mince contenant 5 à 6 cmc. d'acide sulfurique concentré. On ferme ensuite le tube externe à la flamme en ayant soin de l'effiler légèrement à une extrémité (afin de pouvoir le briser facilement et de régulariser la sortie du gaz). Le tube refroidi, on le renverse pour amener l'acide

l'estomac aux doses de 2 à 3 gr., apparaît en quantité minime dans l'urine, qui devient alcaline pendant 40 heures environ. Chez un chien, après administration de 2,50 gr. de formiate de soude par l'estomac, l'urine recueillie pendant les 3 jours consécutifs est alcaline pendant les premières 48 heures et le produit de distillation de l'urine de 30 heures ne contient qu'une quantité minime de formiate. Dans une autre série d'expériences, faites comparativement avec les formiates de soude et d'ammoniaque, l'auteur conclut que le formiate de soude est décomposé en plus grande quantité que le formiate d'ammoniaque; chez un chien de 6 k., à la suite de l'ingestion de 4 gr. de formiate de soude, on retrouve dans l'urine des premières 48 heures 0,56 gr. de sel, tandis qu'après l'ingestion de 4 gr. de formiate d'ammonium on retrouve 1,146 gr.: c'est-à-dire dans le cas du formiate de soude **14** à **22** °/₀ de la quantité administrée et dans le cas du sel d'ammonium **28** °/₀.

Mais le taux de l'acide formique éliminé diffère suivant la quantité ingérée, ainsi que le montrent les chiffres de Pohl (1) (1893); l'organisme du chien ne peut brûler complètement que de petites quantités de formiate (1 gramme pour 7 kilogr.); si la quantité administrée dépasse ces limites, une partie s'élimine en nature. Un chien de 7,900 k. ayant reçu 1,0304 gr. de formiate de soude a éliminé **5,8** °/₀ de la quantité administrée; un autre de 7,750 k. a éliminé en 3 jours **18** °/₀.

Enfin Bonanni (2) (1905) a étudié l'élimination du formiate de chaux.

---

sulfurique au contact du liquide à examiner et on le maintient au bain-marie à 70°-80° pendant 15 minutes, temps suffisant pour que la réaction soit complète.

Pour recueillir le gaz dégagé, le tube une fois froid, on casse sa pointe dans l'eau au-dessous d'un entonnoir fixé par un bouchon de caoutchouc à un eudiomètre gradué plein d'eau. On a ainsi avec l'oxyde de carbone de petites quantités de CO^2, en outre de l'air atmoshérique du tube à réaction. Pour évaluer le volume de l'oxyde de carbone, on l'absorbe par du chlorure cuivreux, après avoir séparé du mélange du gaz le CO^2 et l'oxygène qui se dissoudraient naturellement dans ce réactif. L'oxyde de carbone étant très peu soluble dans l'eau, on peut le recueillir sur ce liquide. Avant de faire la lecture définitive, il faut absorber par de la potasse l'acide chlorhydrique gazeux résultant de l'action du Cu^2Cl^2. — On évalue le volume de gaz à la température de 0° et à la pression de 760.

(1) J. Pohl : *Ueber die Oxydation des Methyl- und Aethylalkohols im Thierkörper*. Archiv für experim. Pathol., XXXI, 1893, 281.

(2) A. Bonanni : *Sul comportamento del formiato e dell'acetato di calcio nell'organismo*. Bolletino della R. Academia medica di Roma, 1905.

Pour séparer les acides gras volatils de l'urine, l'auteur distille l'urine additionnée d'acide sulfurique en la faisant en même temps traverser par un courant de vapeur d'eau et la laisse distiller jusqu'à ce que le produit de distillation conserve une réaction acide (12 à 15 heures, quelquefois 24 heures). Celui-ci, outre l'acide formique et les autres acides gras volatils, contient de l'acide chlorhydrique, des traces d'acide benzoïque et de paracrésol. Pour obtenir les acides gras volatils exempts de ces impuretés, on neutralise le

Après l'injection intra-veineuee ou sous-cutanée de 2 gr. de ce sel chez des chiens de 7 à 9 k., il en a retrouvé dans l'urine 12 à 15 % en nature; chez des lapins de 3 k. à 3,500 k., 1 gr. du sel donné dans les mêmes conditions fournit comme taux d'élimination 13 à 18 %.

Rappelons ici, pour être complet, que l'acide formique se trouve en petites quantités dans l'urine, normale ou pathologique de l'homme, du chien et des herbivores, ainsi que l'ont démontré de nombreux auteurs, RANKE (1), CAMPBELL (2), KLINGER (3), BALIGINSKY (4), JACUBASCH (5),

---

produit de distillation avec du carbonate de soude, on évapore à siccité et on épuise plusieurs fois le résidu avec de l'alcool absolu bouillant : le chlorure de sodium reste insoluble, tandis que les sels des acides gras volatils passent en solution avec des traces de benzoate de soude et de paracrésol. On sépare l'acide benzoïque en traitant par l'acide sulfurique la solution concentrée et refroidie à 0°; puis on neutralise le liquide à la température ordinaire avec du carbonate de soude et on l'agite avec de l'éther pour éliminer le paracrésol. On chauffe la solution saline pour en chasser l'éther et on la distille à nouveau avec un acide. Le produit de distillation contient presque à l'état de pureté les acides gras volatils contenus dans l'urine examinée.

Pour le dosage de l'acide formique dans ce liquide, l'auteur s'est servi, comme Pohl, de la méthode pondérale de Scala (A. SCALA : *Determinazione quantitativa dell'acido formico in presenza di acido acetico e butirrico*. Bollet. R. Acad. med. di Roma, 1889-90, p. 130. — Résumé in Chem. Ber., vol. XXIII, Ref. 599), basée sur la propriété que possède cet acide de réduire le chlorure mercurique en chlorure mercureux. On neutralise le liquide avec la potasse, pour éviter une volatilisation de l'acide formique, on le verse doucement dans un vase à précipité, on ajoute un excès de solution saturée de sublimé et on le maintient pendant 2 heures au bain-marie. Le vase est couvert avec un grand verre de montre pour éviter que des projections de calomel dues au dégagement de CO_2 puissent amener une déperdition et d'autre part que rien n'y tombe de l'extérieur. On filtre le liquide sans le laisser refroidir (en se refroidissant il laisserait déposer lentement une poudre blanche qui n'est pas du calomel et qui produirait de fortes erreurs) et on recueille tout le calomel précipité sur un filtre-Berzélius séché et pesé précédemment, on lave à l'eau froide jusqu'à ce que celle-ci ne précipite plus par le nitrate d'argent, on sèche à 100° et on pèse. Un centigramme de calomel correspond à un milligramme d'acide formique.

(1) RANKE : *Ueber thierischen Stoffumsatz*. Journ. f. praktische Chemie, LVI, 1852, 1.

(2) CAMPBELL : Résumé in Canstatt's Jahresbericht, 1854, N° 1. p. 125.

(3) KLINGER : *Ueber die Säuren des diabetischen Harns*. Annalen der Chemie u. Pharmacie, CVI 1858, 19.

(4) BALIGINSKY : *Ueber Carbolsäure im Harn*. Hoppe-Seyler's medizinische-chemische Untersuch. IIe partie, 1866, p. 240.

(5) JACUBASCH : *Beiträge zur Harnanalyse bei Leukämie*. Virchow's Archiv, XLIII, 1868, 196.

THUDICHUM (1), VON JACKSCH (2), SCHOTTEN (3), GRÉHANT et QUINQUAUD (4), PELLACANI (5), POHL (6), BONANNI (7). D'après VON JACKSCH et BONANNI, la quantité normale des 24 heures serait de 0,004 gr. à 0,009 gr.

MÖRNER et HYBBINETTE sont les seuls qui aient nié la présence d'acides gras volatils dans l'urine normale.

Les résultats assez dissemblables obtenus par les divers auteurs sur l'élimination de l'acide formique artificiellement introduit dans l'organisme peuvent s'expliquer par les conditions assez différentes dans lesquelles ils ont opéré.

La faiblesse du taux de l'élimination en nature indiqué par certains d'entre eux peut être due à des causes multiples. Le coefficient de 26 % indiqué par SCHOTTEN par exemple peut résulter de ce fait que les 20 gr. de formiate de soude qu'il donnait à ingérer avaient sûrement un effet purgatif amenant l'élimination par l'intestin d'une quantité notable du sel. Les chiffres faibles de PELLACANI n'ont été établis que pour une période de 30 à 48 heures, et il y a lieu de se demander si l'élimination du formiate n'a pas continué à se faire pendant plus longtemps. Un autre facteur susceptible peut-être de causer parfois des variations importantes est la participation possible d'une excrétion des formiates par divers sucs digestifs, bien que nous n'ayons pas pu le mettre en évidence dans nos recherches précédemment exposées. Enfin la nature de la base qui sature l'acide formique peut aussi entrer en ligne de compte.

Pour l'étude que nous avons faite, nous rappellerons que nous nous étions servi de formiate de soude et que nos conclusions ont été les suivantes : les formiates introduits dans l'organisme sont en partie tranformés, en partie éliminés en nature (8) **(56 ou 64 % suivant la voie d'introduction)** ; leur transformation s'opère dans les divers organes et en particulier dans le foie, elle consiste alors en une oxydation ; de plus si les formiates sont ingérés au lieu d'être injectés dans le sang, ils se dédoublent partiellement dans le tube digestif sous l'influence de l'activité microbienne et les produits de dédoublement sont le gaz carbonique et l'hydrogène.

Novembre 1907.

(1) THUDICHUM : *Ueber Essigsäure, Ameisensäure und vermuthliche schwefelige Säure und salpetrige Säure aus Menschenharn.* Arch. f. ges. Physiol., XV, 1877, 12.

(2) VON JACKSCH : Zeitschr. f. physiol. Chem., X.

(3)
(4)
(5) Loc. cit.
(6)
(7)

(8) Méthode de dosage de GRÉHANT et QUINQUAUD.

FROM THE PHARMACOLOGICAL LABORATORY EDINBURGH UNIVERSITY.
(SIR THOMAS R. FRASER, DIRECTOR.)

The action of Yohimbine on the respiration,

BY

J. A. GUNN M. A., B. Sc. M. D.
Assistant in the Materia Medica Department.

In 1898 OBERWARTH (1) showed that lethal doses of Yohimbine arrest the respiration of frogs and rabbits.

In 1901 BARTHOLOW (2) confirmed these observations of OBERWARTH.

In 1907 MÜLLER (3) showed that, in dogs and cats, small doses of Yohimbine cause an increased frequency of breathing and a deepening of expiration.

My experiments which were made with the Lactate have shown that small doses of Yohimbine accelerate the respiration, and increase the depth of inspiration, in frogs and rabbits.

Since this effect on the respiration is brought about by doses which produce either no effects, or only very slight effects, on other systems, one is led to hope that Yohimbine may be found useful therapeutically not only as an aphrodisiac, (for which action it is now principally employed and for which there is already pharmacological justification), but also as a respiratory stimulant.

Since November 1906 I have performed a large number of experiments dealing with the general pharmacology of Yohimbine, and as result of these I am led to believe that the stimulating action on the respiration merits wider recognition.

---

(1) OBERWARTH : Virchow Archiv, 1898, No 292.
(2) BARTHOLOW : New-York Med. News, 1901, 330.
(3) MÜLLER : Archives de Pharmacodynamie, Vol. XVII, 1907.

1. – Action of Yohimbine on the respiration of the Frog.

I fond (v. accompaning table) that the minimum lethal dose of Yohimbine Lactate by subcutaneous injection for male frogs (Rana temporaria) is 0.05 gramme per kilogramme of frog weight.

N° of experiment.	Weight of frog in kilos.	Dose per kilo.	Result.
1	0 030	0 033	Recovery — severe effects.
2	0 037	0 038	» » »
3	0 027	0.045	» profound »
4	0.029	0 048	» » »
5	0 032	0 049	» » »
6	0 046	0 05	Death in 5 hours 47 minutes.
7	0 040	0 052	» » 5 » 42 »
	0 023	0 055	» » 3 » 49 »
9	0.046	0 06	» » 3 » 30 »
10	0 030	0.1	» » 55 »

I have found that, with doses ranging from about three-fourths of the minimum lethal dose and upwards, the lung respiration of the frog is ultimately completely paralysed. The time required for recovery from non lethal doses varies according to dose from a few hours to four or five days. In the frog the direct cause of death from Yohimbine is arrest of the heart as OBERWARTH pointed out.

The method of cessation of the respiratory movements varies somewhat. The abdominal respirations always cease before, and recover after, the throat respirations. Before the throat respirations finally cease, usually either small groups of faint undulations of the floor of the mouth occur, separated by long pauses, or single deeper gulping movements are made with decreasing frequence. For a considerable time after spontaneous respirations have ceased, feeble respiratory mouvements ensue if the frog be disturbed, and these induced movements are the first signs of recovery of the respirations after their paralysis.

Doses under three-fourths, but over one half the minimum lethal dose induce only slowing of the respirations.

With doses of less than one half the minimum lethal dose, there is generally some increased frequency of breathing before slowing occurs.

Doses of about one tenth the minimum lethal dose produce only an acceleration of respiration, as is shown by the following experiment.

Experiment 11.

Rana Temporaria. Male. Healthy. Weight 48 grammes. At 3.35 p. m. 0.68 c.c. of a solution of Yohimbine Lactate 0.005 gm. dissolved in 10 c.c. Ringer's Solution) was injected subcutaneously into the dorsal lymphsac. This gave an actual dose of 0.00019 gm, equivalent to 0.004 gm. per kilogramme, or about one twelfth the minimum lethal dose.

The following table shows the effects on the respiration.

Time.	Respirations par 10″.	Notes
3.20	23	Respirations moderately deep.
3.30	22	» » »
3.35		0.004 gm. p kilo injected into dorsal lymphsac.
3.40	30	Respirations deeper.
3.45	30	» »
3.50	26	» moderately deep.
3.55	27	» » »
4 0	25	» very deep.
4 5	29	» shallow.
4.15	24	» moderately deep.
4.25	23	» » »
5 10	22	» » »
6 10	23	» » »
9.10	22	» » »

No other symptoms were observed during this experiment.

It would therefore appear that the smallest doses which produce any apparent action increase the frequency and depth of the respirations of the frog.

2. — Action of Yohimbine on the respiration of the Rabbit.

I found (v. adjoining table) the minimum lethal dose of Yohimbine Lactate by subcutaneous injection for rabbits to be 0.044 gramme per kilogramme.

This is somewhat less than OBERWARTH found for Yohimbine (0,052 gm. per kilo). In my experiments only male rabbits were used,

and they were kept without food for twenty-four hours in order to obtain a nearer approximation to the true body weight.

Nº of experiment.	Weght of rabbit in kilos.	Dose per kilo.	Result.
12	2 400	0.01	Recovery, slight effects.
13	2 000	0 025	» severe effects
14	1.700	0.03	» » »
15	1 450	0 04	» profound effects.
16	1 750	0 043	» almost died.
17	1.800	0.044	Death in 4 hours 15 minutes.
18	1 750	0 045	» » 1 » 9 »
19	1 550	0 047	» » 4 » 20 »
20	1 300	0 05	» » 35 »
21	1 350	0 052	» » 15 »

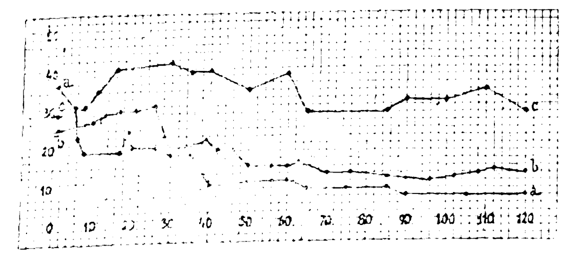
The immediate cause of death from lethal doses of Yohimbine in rabbits is paralysis of the respiration.

This paralysis is probably central for the activity of the phrenic nerve ends is slightly, if at all, impaired.

Thus in Experiment 21 faradic stimulation of the left phrenic nerve with the secondary coil at 420 mm. caused a contraction of the diaphragm for at least 30 minutes after cessation of the respiration.

Large doses of Yohimbine produce a profound fall in the temperature of rabbits, and this fall of temperature is probably one factor in causing the slowing of respiration by these doses.

I have found that large doses of Yohimbine injected subcutaneously, decrease the number of the respirations of the rabbit from the first. Medium doses cause a primary increase, followed by a decrease in their rate. Small doses seem to produce produce an increase, without subsequent decrease. I append a diagram of the number of respirations in three cases illustrating this.



Ordinate = Respirations per 10''.
Abscissa = time in min. after inj[n].

Diagram of the rate of Respiration in the first two hours after subcutaneous injection of doses equal to

a. 0.04 gm. per kilo.
b. 0.025 » » »
c. 0.008 » » »

In the course of Blood Pressure Experiments it was possible to obtain a record not only of the rate but also of the amplitude of the respirations.

The method adopted in these experiments was as follows :

The rabbit was first anaesthetised with Chloroform. The trachea was then opened and a canula tied into it through which the animal respired. Diluted ether was thereafter inhaled through this canula as an anaesthetic and chloroform discontinued. A canula in a carotid artery connected with the manometer recorded the arterial pressure. Respirations were recorded by a double stethograph attached by an elastic band round the thorax, and connected to a Marey's tambour. Injections were made into a jugular vein.

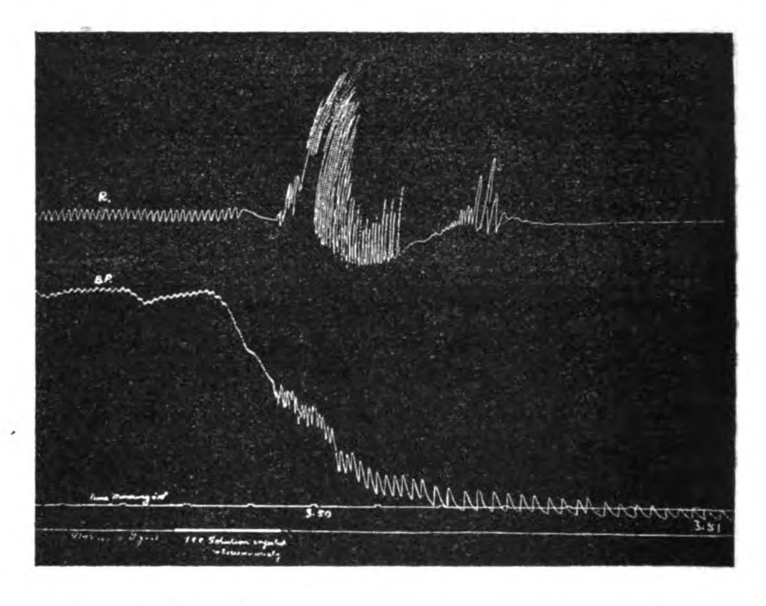
The first of these experiments shows the effects of rapidly lethal dose of Yohimbine.

Experiment 22

The rabbit, a buck, weighing 1500 grammes, received by intravenous injection 0.015 gm. Yohimbine Lactate dissolved in one c.c. Ringer's Solution. This dose was equal to 0.01 gm. per kilo.

Analysis.

Time.	Average B. P. in m.m. Hg.	Pulse rate per 10″.	Respirations per 10″.	Notes.
3 47	120	49	10	
3.49	118	49	10	
3.49 40″				1 c.c. injected. When injection had been half completed, B. P. began to fall rapidly, and respirations were inhibited for 6″.
3 49 50″	68	33	25	
3.50	36	11	24	
3.50 10″	22	7	6	
3.50.20″	18	4	13	
3.50.30″	14	5	0	
3.52	8	5	0	
3 55	0	0	0	



Tracing I. — Intravenous injection of 0.01 gramme per kilo.

Upper curve = Respiration. { *Inspiration* — ↑ / *Expiration* — ↓ }

Lower curve = Blood Pressure.

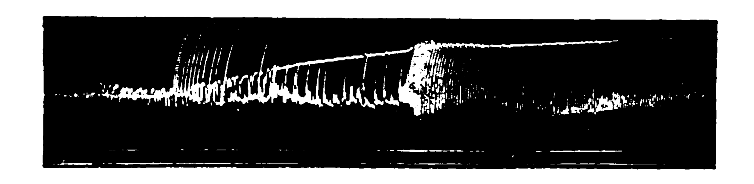
As the tracing shows, the respirations after a striking primary increase in their rapidity and amplitude, soon cease. The increase in the respiratory excursus is at first due to exaggerated inspirations, later partly to more vigorous expirations.

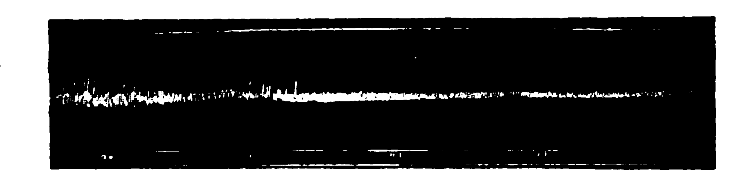
The blood pressure falls very rapidly, with a coincident decrease in the pulse rate.

It is apparent therefore that even with a fulminating dose of Yohimbine Lactate by intravenous injection and under ether narcosis, the ultimate paralysis of the respiration may be preceded by a stage of increased depth and frequency of the respiratory movements.

The analysis and tracing of the following experiment indicate the nature of effects produced by small doses.

Experiment 23





Tracing II. Intravenous injection of 0.0015 gm. per kilo.

Upper curve = Blood Pressure.

Lower Curve = Respiration. { *Inspiration* = ▲ / *Expiration* = ▼ }

Fig. 1. — Showing (*a*) transient fall of Blood Pressure with subsequent rise above normal. (*b*) increased amplitude of the respiratory movements.

Fig 2. Continuation of fig. 1. — Showing (*a*) persistent high Blood Pressure. (*b*) continued stimulation of the respiration.

Table.

Time.	Injection.	Average B. P. in mm. Hg.	Pulse rate per 10″.	Respirations per 10″.	Respiratory Excursus.
11.53		114	38	12	3 mm.
11 54 40″		113	36	10	3 »
11.54 55″ to 11.55.12″	Y. L. 0 0015 gm. per kilo.				
11.55		101	32	10	3 »
11.55.30″		59	22	10	2 »
11.55.40″		58	19	10	2 to 35 »
11.56		71	23	10	5 to 52 »
11.57		103	35	15	2 to 28 »
11.57 20″		114	?	11	34 to 40 »
11 59		122	39	11	9 to 20 »
12 1		131	41	11	5 to 10 »
12 5		129	37	10	4 to 5 »
12 16		128	31	11	3.5 »
12 26		112	30	10	3 »
12.26.40″		116	28	10	3 »
12 46 47″ to 12.46 57″	Y. L. 0 001 gm. per kilo.				
12.48.30″		58	20	10	2 5 »
12 51		82	27	10	3 »
1.2		87	27	10	3 »
1 3 to 1 3.10″	Y. L. 0 0007 gm. per kilo.				
1.3 30″		54	19	9	2 »
1 5		52	20	9	2 »
1.12		68	23	9	2.5 »
1.33		73	22	9	2.5 »
1.46		73	23	9	2.5 »

Experiment discontinued.

The effect on the respiration is marked. With the first injection, the amplitude of the respirations, after a short period of irregularity, is enhanced to a conspicuous degree. This increase is mostly due to fuller inspirations. In this experiment [the respiratory excursus — as measured by the stethograph — remains increased for over 20 minutes after the injection of a dose equal to 0.0015 gramme per kilo intravenously. The rate of the respirations is but little altered. The stimulation of the respiration does not seem to be followed by any depression.

A second injection of 0.001 gm. per kilo. has practically no effect on the respiration.

After a third injection of 0.0007 gm. per kilo the amplitude of the respirations is slightly diminished. As there was already 0.0025 gm. in the circulation, the addition of 0.0007 gm. per kilo begins to manifest the paralytic action on the respiration.

As regards the effects on the blood pressure, the first injection causes a transient fall of blood pressure — due partly to slowing of the heart — and a subsequent rise above normal, in which the pulse rate is slightly quickened. The second and third injections induce a similar fall with imperfect recovery. I have found that, with doses under 0.0015 gm. per kilo in rabbits, the fall of blood pressure soon passes off, and is followed by a considerable and persistant rise above the normal.

Doses of from 0.0005 to 0.0015 gm. per kilo intravenously generally produce a considerable increase in the amplitude of the respiratory movements of the rabbit, and with the smallest of these doses the effects on the blood pressure are insignificant.

CONCLUSIONS.

Small doses of Yohimbine act as a respiratory stimulant for frogs and rabbits. This is shown by an increase in the rate or amplitude or in the rate and amplitude of the respiratory movements, and is brought about by doses which have only slight effects, if any, — and apparently no deleterious effects — on other systems. With these small doses the stimulation of the respiration is not followed by any depression.

November 1907.

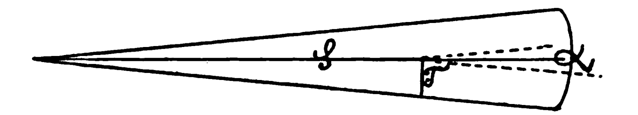
Pharmakologische Studien über Silberwirkungen,

VON

PROF. Dr MED. H. DRESER (ELBERFELD).

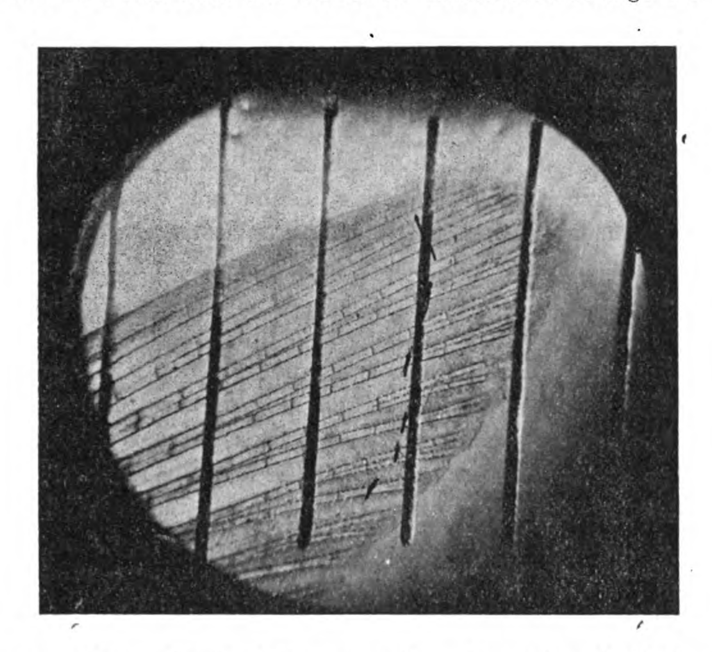
Die Silbersalze werden heutzutage in der Therapie nur noch ausschliesslich äusserlich angewandt, entweder als Aetzmittel oder in verdünnter Lösung als Adstringens und Desinficiens. Dem Praktiker ist besonders die *Tiefenwirkung* der verdünnten Lösungen interessant. Zu ihrer Messung am lebenden Object fand ich die durchsichtige Schwanzflosse kleinerer Fische so zweckmässig, als ob sie von der Natur dafür geschaffen wäre. In einem Querschnitt betrachtet, der senkrecht zur Ebene der Ruderflosse und parallel mit ihren Knorpelstrahlen gelegt ist, umsäumen der rechte und linke Epithelrand einen sehr spitzen Winkel, den ich kurzweg als « Keilwinkel » bezeichnen will, da in den folgenden Betrachtungen die Flosse einfach geometrisch als ein dünner, sehr schmaler Keil angesehen wird. Da im unversehrten Zustande der capillare Blutkreislauf sich bis auf wenige Hundertel Millimeter unter den Epithelsaum heran erstreckt so wird eine Lösung mit Tiefenwirkung diesen Capillarkreislauf soweit durch Herbeiführung von Gerinnung unwegsam machen, als sie in die Tiefe vorzudringen vermochte. Nun kann zwar der Capillarkreislauf nur von der Fläche aus beobachtet werden und die directe Tiefenbestimmung mit Hilfe der Mikrometerschraube des Mikroskops ist wegen der Trübung der Oberfläche durch die von dem Aetzmittel bewirkten chemischen Fällungen äusserst erschwert und unsicher gemacht. An Stelle dieses primitiven Hilfsmittels suchte ich vielmehr diejenige äusserste Capillarschleife auf, welche dem manchmal schon zerstörten Epithelsaum des freien Flossenrandes zunächst gelegen noch Blutcirculation aufwies. Misst man die Breite dieses durch die Aetzwirkung aus der Circulation ausgeschalteten, also

abgetöteten Aetzsaumes S so zeigt Figur 1 wie man daraus die Tiefe, bis zu der das Aetzmittel vordrang, berechnen kann. Es sei $\varkappa$ der vorhin



erwähnte « Keilwinkel », dann ist die Tiefe T des Eindringens dividirt durch die Breite des Aetzsaumes S gleich dem Sinus des halben Keilwinkels, oder $T = S. \sin \varkappa/2$. Die Grösse dieses Keilwinkels bestimmte ich mittels Lichtreflexion in der Weise, dass ich an einem vertical stehenden grösseren, in Grade geteilten Halbkreis-Bogen einen Mikroskoptubus so befestigte, dass seine Längsaxe, in welcher der reflectirte Strahl verlaufen sollte, parallel zu einem willkürlich gewählten Radius des Kreisbogens fixirt war. An Stelle des abgeschraubten Objectivs brachte ich horizontal einen Glasfaden als Fixirmarke an; das Ocular wurde durch einen einfachen Diopter ersetzt. Der Fisch, dessen « Keilwinkel » gemessen werden sollte, lag auf einer horizontal längs des Kreisbogens verschiebbaren Glasplatte und auf seiner Schwanzflosse war ein passendes Bruchstück eines Deckgläschens zwecks Herstellung der reflectirenden Keilfläche aufgelegt. Zunächst wurde eine horizontal gehaltene Markirnadel senkrecht zur Halbkreisebene soweit entlang geführt, bis ihr Spiegelbild mit der Glasfadenmarke in Mikroskoptubus zusammenfiel und der Winkelgrad notirt; nun wird durch Vorschieben der Glasplatte das im « Keilwinkel » zu ihr geneigte Deckgläschenbruchstück in's Gesichtsfeld gebracht und von neuem mit der Markirnadel die Stelle am Gradbogen aufgesucht, wo ihr Spiegelbild mit der Glasfadenmarke coïncidirt und die Gradzahl notirt. Das Einfallslot hat sich um den Betrag des « Keilwinkels » gedreht; da aber die Sehaxe, d. i. die Richtung des reflectirenden Strahles die gleiche geblieben ist, so muss die den auffallenden Strahl kennzeichnende Markirnadel um $2\varkappa$ wandern, um wieder die Marke zu decken. In mehreren Versuchen betrug dieser Winkel $2\varkappa = 5$ bis 6^0. Der für die Saumbreite maasgebende Winkel $\varkappa/2$ wird also in vierfacher Vergrösserung gemessen, und ist 1, 25^0 bis $1{,}5^0$. Die Breite des Aetzsaumes, innerhalb dessen der Capillarkreislauf aufgehoben ist, versuchte ich zunächst mittelst des Ocularmikrometers zu messen. Nach 2 Minuten langer Einwirkung 1/2 %-iger Höllensteinlösungen war aber stets der ganze epitheliale Rand zerstört, so dass die Knorpelstrahlen aufgefasert frei herausragten. Es blieb mir daher nichts übrig, als von der zu ätzenden Flosse bei schwacher Vergrösserung (circ. 14 linear) eine Photographie mit Hilfe des Mikroskops aufzunehmen und später in diesem leicht wieder zu erkennenden Situationsbild der

Knorpelstrahlen mit ihren Teilungen und Gliedern die Grenze, bis zu der die Circulation noch im Gange war, auf der Photographie einzutragen und daraus S, die Breite des geätzten Saumes zu berechnen, wie Fig. 2 illustrirt. Fast stets war durch die Silberniederschläge die Ober-



fläche so schwer durchsichtig geworden, dass eine Aufhellung mit Natriumhyposulfit den Messungen meist vorausgehen musste. Es ist erstaunlich, wie geringfügig diese Tiefenwirkung selbst bei Höllensteinlösung in der therapeutisch meist benutzten Concentration von 1/2 % ausfiel bei 2 Minuten langer Einwirkung. Fig. 2 zeigt die Flosse auf einem in Millimiter geteilten Objectträger liegend photographirt, um nach der Aetzung und Wiederaufhellung die Stellen, bis zu welchen die Blutcapillaren unwegsam wurden, markiren zu können, etwa wie auf dem Strassenplan einer Stadt. Da die Beobachtung der Circulation eine stärkere Vergrösserung erfordert und der freie Epithelsaum zerstört war, dienten zur Markirung der Grenze zwischen noch lebendem und abgetödtetem Gewebe die Teilungsstellen der Knorpelstrahlen als Ausgangspunkt für die Abzählung der Knorpelglieder vom dicken Ende der Flosse her. Als grösste Breite des circulationstodten Saumes ergibt sich 18,7 Millimeter als Mittel aus mehreren solchen Aufnahmen, da wo der Keilwinkel am dünnsten ist und der Knorpelstrahl am längsten. Da 14 Millimeter der Photographie in natura 1 Millimeter gleich sind, wäre 1,336 mm. die grösste Saumbreite. $\alpha/2$ ergibt sich zu $1^\circ 30'$ und es berechnet sich $\log T = \log \sin 1{,}5^\circ + \log 1{,}336$ oder $T = 0{,}03497$ mm. Die

intensiv weiss geätzte Oberfläche hätte unbedingt eine viel grössere Tiefenwirkung als nur 0,035 Millimeter erwarten lassen. Beim Einträufeln einer 0,5 % Höllensteinlösung in's Auge wird wegen der reflectorischen Secretion der Thränen mit 1,3 % Kochsalzgehalt das Silber wohl kaum 2 Minuten lang als Nitrat wirken, sondern sehr rasch in Chlorsilber umgesetzt sein; die schützende Epitheldecke wird aber dennoch im ersten Momente der Berührung durch das Silbernitrat abgetödtet werden. Die Bewegungen des Augapfels unter den Lidern wird den mikroskopisch dünnen Aetzschorf aber bald wegfegen und eine flächenhafte Wunde wird hinterbleiben. Eine solche wunde Schleimhautfläche bedarf aber gerade besonderer antiseptischer Reinhaltung. Eine einmalige Einträufelung von Höllensteinlösung kann schwerlich bereits tiefer eingedrungene Mikroben erreichen; erst wiederholte Einträufelungen werden durch successive Abtragung mikroskopisch dünner Gewebsschichten etwas ausrichten können.

Da viele der neueren Silberverbindungen, wie mich die mikroskopische Beobachtung des Aetzvorganges am Fischschwanz lehrte, ebenfalls dessen Epithel zerstören und Wundflächen schaffen, wäre z. B. für die prophylaktische Augenausspülung der Neugeborenen eine nicht ätzende, das Epithel schonende Silberverbindung vermutlich eine Verbesserung.

Die Aetzung durch concentrirtere Lösungen und die Adstringirung durch verdünntere Lösungen sind beide nur dem Grade nach verschiedene Vorgänge, die auf der chemischen Reaction der Metallionen mit dem Eiweiss und der leimgebenden Substanz der lebenden Gewebe beruhen, so gut wie die sonstigen Fällungen und Umsetzungen des Metallsalzes. Durch die reflectorisch sich ergiessende, chlorhaltige Thränenflüssigkeit im Auge werden aber die Silberionen jeder, auch der organischen Silberverbindungen sehr prompt mindestens auf die Ionenzahl des Löslichkeitsproduktes vom Chlorsilber zurückgedrängt. Nach Ausweis von Messungen der Elektrischen Leitfähigkeit kommt dem « unlöslichen » Chlorsilber in gesättigter wässriger Lösung bei 25° doch noch eine solch geringe Löslichkeit zu, wie sie einer 0,0000144 normalen Lösung entspricht (oder $1{,}44 . 10^{-5}$). Dass selbst in dieser enormen Verdünnung die Silberionen noch giftig wirken, geht aus einer 1906 veröffentlichen Untersuchung S. LA FRANCA (1) hervor, der an Paramäcien und Typhusbazillen feststellte, dass die Silberionen bei noch hundert mal schwächerem Gehalt der Lösungen, nämlich 10^{-7} normal abtödtend wirkten.

Eine 0,5 % Silbernitratlösung ist $\frac{5}{170}$tel oder rund 0,03 normal; die 1,3 % Kochsalz enthaltende Thränenflussigkeit ist 13/58,5tel oder

(1) Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 48, S. 481.

0,222 normal oder da Kochsalz zu 82 % dissociirt ist, in Bezug auf Chlorionen nur 0,182 normal. Hieraus berechnet sich nach LE BLANC (1), die Zahl der in der Thränenflüssigkeit übrig bleibenden Silberionen zu $C = \frac{0{,}0000144^2}{0{,}182}$ oder $1{,}14.10^{-9}$ normal.

Die bacteriologischen Nährbouillons mit 0,5 % ClNa gestatten gemäss analoger Berechnung nur einen Silberionen gehalt von $2{,}96.10^{-9}$ Normalität. Es ist darum leicht zu verstehen, dass die verschiedenen neueren Silberpräparate bei vergleichender Prüfung in derselben Nährbouillon ziemlich gleichmässig dieselbe Desinfectionskraft aufwiesen. Vorausgesetzt, dass ein Silberpräparat in rein wässeriger Lösung einen Ionengehalt besitzt, der gleich oder geringer ist als derjenige, den die halbprocentige Kochsalzlösung aus ihm macht, wird es in Berührung mit den 0,5 % ClNa enthaltenden Körperflüssigkeiten als Desinficiens immer mit dem Höllenstein concurrenzfähig bleiben. Nach LA FRANCA erfährt die Giftigkeit der Silberlösungen einen raschen Sprung beim Uebergang vom Silber-Ionengehalt von 10^{-8} Normalität auf 10^{-7} Normalität. Das lebende Eiweiss der von ihm als Giftreagenz benutzten Paramäcien und Typhusbacillen reagirt noch empfindlicher auf Silberionen als Chlor; als Analoga aus der anorganischen Chemie wären die Ionen der Halogene Brom und Jod zu citiren, deren Silberverbindungen noch unlöslicher als Chlorsilber sind; fernere Beispiele aus der qualitativen Analyse wären die Prüfung mit Gypswasser auf Strontium und Baryum und die Prüfung mit Strontiumsulfatlösung auf Baryum. Es ist daher wohl verständlich, dass Lösungen von colloidal gelöstem Chlorsilber auf Frösche noch giftig wirken, wenn sie in die Lymphsäcke injicirt wurden.

Von der Absicht ausgehend, unnötige Aetzung und Reizung an der Applicationsstelle zu vermeiden, haben die Farbenfabriken vorm. Bayer & Cie die Formaldehydverbindung der Nucleinsäure der Hefe mit Silbernitrat ausgefällt und dazu so lange eine gesättigte Kochsalzlösung hinzugefügt, bis eine klar durchsichtige Lösung entstanden war. Nach Ausfällung mit Alkohol und weiterer Reinigung resultirt das als « Sophol » von Prof. O. VON HERFF (2) bereits klinisch geprüfte Präparat. In dem zweiten Beispiel der betreffenden Patentschrift ist an Stelle des Kochsalzes essigsaures Natrium als auflösendes Salz aufgeführt. Lassen wir zunächst den chemischen Zweck der Wiederauflösung des Formo-Nucleinsilbers bei Seite, so erscheint das Natrium-Acetat schon aus dem pharmakologischen Grunde nicht am Platze, weil es die Silberionen auch nicht entfernt dermaassen zurückzudrängen vermag, wie dies das

(1) Lehrbuch der Electrochemie, 3 Aufl. S. 155.

(2) Münchener med. Wochenschrift 1906, No 20, und Gynaekolog. Rundschau, 1907, No 19.

Chlornatrium tut. Während das mit Kochsalz dargestellte Präparat (« Sophol ») die Schwanzflosse *nicht* ätzte, wurde sie durch das mit essigsaurem Natrium hergestellte Product ebenso weiss geätzt wie durch Lösungen von Silberacetat. In einer Lösung von Silbernitrat wird durch Kaliumnitrat und ebenso in einer Lösung von Silberacetat durch Natriumacetat die Zahl der Silberionen nur in einem für medicinische Zwecke gar nicht nennenswerten Betrag zurückgedrängt, wie ich mich durch Messung der elektromotorischen Kräfte überzeugen konnte, welche die genannten Silbersalzlösungen mit einer Silberelektrode vor und nach Zusatz der Alkalisalze derselben Säure wie in dem untersuchten Silbersalze ergaben. Die als « *Lapis mitigatus* » officinelle, zusammengeschmolzene Mischung von 1 Gewichtsteil Höllenstein mit 2 Gewichtsteilen Kalisalpeter ergab in 1 % Lösung nur eine Verminderung der Silberionen um Circ. 21 %; beim Silberacetat und 1 Mol. Natriumacetat war sie noch geringer.

Nachstehend die Einzelpotentiale, welche 7 verschiedene nach Beispiel 3 des Patentes dargestellte « Sopholproben » in Combination mit einer Calomelelektrode als Normalelektrode ergaben. (Die Technik und die Details für die Ausführung solcher Messungen sind aus den physikalisch-chemischen Handbüchern von OSTWALD oder von ROTH zu ersehen.)

Probe 1 : 0,309 Volt;	Probe 5 : 0,305 Volt;
Probe 2 : 0,326 »	Probe 6 : 0,309 »
Probe 3 : 0,3015 »	Probe 7 : 0,274 »
Probe 4 : 0,2975 »	

als Maximum wurde also 0,326 Volt und als Minimum 0,274 Volt beobachtet.

Die Bedeutung dieser Voltzahlen wird aus folgenden Vergleichsversuchen klar : Ganznormale Silbernitratlösung in der gleichen Weise gemessen (Calomel-Normalelektrode-10 % Kaliumnitratlösung als Zwischenflüssigkeit-Normale Silbernitratlösung, in welche die aus galvanisch versilbertem Silberdraht gebildete Silberelektrode eintauchte), ergab die Silberelektrode um 0,495 Volt positiv gegenüber dem Quecksilber der Calomelelektrode; da in letzterer das Quecksilber als Edelmetall positiv (anodisch) ist und zwar um 0,56 Volt gegen die mit Calomel gesättigte ClK-Normallösung, so war die Silberelektrode gegen ihre Normal-Silbernitratlösung um 0,495 + 0,56 = 1,055 Volt positiv. Dies war genau der jenige Wert, welchen NEUMANN (1) zuerst ermittelt hat. Verdünnt man diese Silbernitrat-Normallösung auf 0,1 normal, so findet man

(1) Zeitschr. f. physik. Chemie, Bd. 14, S. 213.

die Silberelektrode nicht mehr 0,495 Volt positiv gegen das Quecksilber, sonder nur noch 0,448 Volt, weil die Zahl der an die Silberelektrode sich niederschlagen wollenden Silberionen geringer geworden ist durch die Verdünnung auf das Zehnfache. Nähme hierbei die Dissociation *nicht* zu, so müsste man theoretisch 0,4375 Volt beobachten. Für hundertelnormale Silbernitratlösung fand ich 0,400 Volt statt 0,3225 Volt und für zehntausendtel normal 0,2840 statt 0,2650 Volt. Die für jede Verdünnung auf den zehnten Teil aus der Nernst'schen Formel für die Concentrationsketten bei 18° C. und der elektrolytischen Gasconstante für das einwertige Edelmetall Silber zu berechnende Voltverminderung um 0,0575 Volt traf erst bei dem Uebergang von $1/1000^n$ auf $1/10000^n$ annährend zu (1); offenbar war in diesen Verdünnungen die Dissociation genügend vollständig. Vergleicht man auf Grund dieser Daten die bei obigen 7 Sopholproben gemessenen Einzelpotentiale, Maximum 0,326 und Minimum 0,274 Volt, so sieht man, dass, trotzdem ihr Metallgehalt demjenigen einer zehntelnormalen Lösung entsprechend hergestellt ist, ihr Ionengehalt doch nur dem einer tausendtel (0,34 Volt) bis zehntausendtel (0.284 Volt) normalen Höllensteinlösung entspricht; er ist also immer noch höher (10^{-3} bis 10^{-4} als der von Chlorsilber in gesättigter Lösung ($1,44.10^{-5}$ normal) oder gar von Chlorsilber in 0,5 % Kochsalzlözung, dem Kochsalzgehalt der tierischen Flüssigkeiten, der nur von der Grössenordnung 10^{-9} ist.

Obwohl das Sophol nur zu äusserlicher Anwendung bestimmt ist, interessirte es mich, ob man damit bei Injection in den Lymphsack von Fröschen die allgemeinen Vergiftungssymptomen, wie sie CURCI, GAETHGENS u. A. beschrieben, besonders am Centralnervensystem beobachten

(1) Anm. — Die Messung der Einzelpotentiale auf grund der NERNST'schen osmotischen Theorie der Concentrationsketten bietet eine interessante Analogie zu dem aus der Sinnes-Physiologie bekannten WEBER'schen oder FECHNER'schen Gesetz der « Unterschiedsempfindlichkeit », welches WUNDT (Grundzüge der Psychophysik 4. Aufl. I Bd. p. 402) mit den Worten formulirt : « Die Merklichkeit einer Empfindung wächst proportional dem Logarithmus des äusseren Reizes. » Diese scheinbar zunächst nur formale Aehnlichkeit wird aber noch reeller, wenn wir auf die Geschmacksempfindungen exemplificiren. Für diese fand W. CAMERER « in Versuchen mit Kochsalz-und Chininlösung, die er nach der Methode der richtigen und falschen Fälle ausführte, das WEBER'sche Gesetz in zureichender Annäherung bestätigt. » (WUNDT, ibid. p. 386.)

Ich möchte darauf aufmerksam machen, dass man blos in der Formel für die osmotische Arbeitsleistung $L = RT. 1 nat (v_1/v_2) = RT. 1 nat (p_2/p_1)$ mit p_1 den als Reiz wirkenden Procentgehalt oder osmotischen Druck der zu schmeckenden Lösung zu bezeichnen braucht und mit p_2 den des Vergleichsreizes, der gerade von p_1 unterscheidbar ist, um als physikalisch-chemischen Grund für die « Unterschiedsschwelle » die Tatsache zu erkennen, dass unsere Geschmacksnervenenden erst dann eine Intensitätsverschiedenheit wahrnehmen, wenn die auf sie ausgeübte *osmotische Arbeit* L den *gleichen* Wert erreicht hat, d. h. wenn $\log (p_2/p_1) = \log (p_3/p_2)$ u. s. w. ist. Die in ihre Salzlösungen eintauchende Metallelektrode reagirt wie ein Geschmacksnerv nach dem FECHNER'schen Gesetz.

könne. Dies war in der Tat der Fall, so dass ich mir die Wiederholung der von diesen Autoren mit dem Silber-Natrium-hyposulfitsalz erhaltenen Befundes (Lähmung der Athmung und des Centralnervensystems) ersparen kann. Dagegen möchte ich kurz auf eine diesen Autoren offenbar nicht zur Beobachtung gekommene Erscheinung hinweisen, weil infolge zu grosser Giftdosen die Vergiftung zu acut verlief. Injicirt man eine nur wenigen (2-4) Milligrammen Chlorsilber entsprechende Menge, so dass die Vergiftung erst in 3-4 Tagen zum Tode führt, so beobachtet man, dass die Frösche hydropisch werden, was sich dadurch zu erkennen gibt, dass ihre Lymphsäcke sich mit Flüssigkeit mehr und mehr füllen; das Wachsen des Oedems lässt sich durch wiederholte Wägung der Tiere nach vorhergegangener Entleerung des Harns mittels Glaskatheters sehr frappant nachweisen. So wog z. B. ein Frosch (R. temp. männl.) vor der Injection von 1 ccm. einer Sophollösung (0,002 metallisches Silber entsprechend), 33 g. nachmittags. Am anderen Morgen wog er schon 40 g., sprang ganz gut, wendete sich prompt aus der Rückenlage um; Harn war allerdings nur sehr wenig zu katheterisiren; die Schwimmhautcirculation schien bei dem sich lebhaft sträubenden Tiere nicht sonderlich verlangsamt. Am Nachmittag, also 24 Stunden nach der Injection wog er bereits 41g.; und sprang noch ganz gut; am zweitnächsten Morgen Gewicht : 44 g., springt schwerfällig, Kreislauf war noch bis zum Schwimmhautrand, aber verlangsamt. 48 Stunden nach der Injection wog er 45 g. und am dritten Morgen 48 g. und lag wie todt da. Da seine Muskeln aber noch nicht starr waren, untersuchte ich den Schwimmhautkreislauf; er stand bis auf ganz vereinzelte Stellen völlig still.

Der enorme Hydrops geht daraus hervor, dass bei der Section sich aus den Kehl- und Brust- und Bauchlymphsäcken nicht weniger als 3 ccm. etwas sanguinolenter Erguss entleerte; alle Körpergewebe sahen ödematös aus. An den sulzig aussehenden Schenkelmuskeln wies ich dies durch Trockensubstanzbestimmung mittelst Alkoholtrocknung nach. Während normale Muskeln von R. temp. im Mittel 20,7 % Trockensubstanz ergaben, wiesen die des hydropischen Frosches nur 15,56 % auf. Bestünde die Oedemflüssigkeit einfach aus reinem Wasser, so läge eine Wasser-Retention von 33 % des normalen Organgewichtes schon vor. Am auffallendsten war mir, dass ich in der Oedemflüssigkeit keine aufgequollenen roten Blutkörperchen sah, wie ich erwartet hatte.

Wiederholt hatte ich nach anderen Giften bei allmähliger Lähmung an feucht gehaltenen Fröschen Zunahme des Körpergewichts constatirt; sie trat aber erst dann ein, wenn das Gesammtverhalten der Tiere schon eine Schädigung infolge der auch mikroskopisch in der Schwimmhaut sichtbaren Kreislaufverlangsamung erkennen liess. Im Gegensatz hierzu nimmt nach nicht allzu massiver Silbervergiftung das Körpergewicht von

vorneherein zu; die Kreislaufschädigung kommt erst viel später; ihr ist vielleicht die letzte Steigerung von 44 auf 48 g. im obigen Beispiel zuzuschreiben. Auf jeden Fall kommt die Gewichtsvermehrung dadurch zu Stande, dass die Hautresorption des Wassers unabhängig von der Wiederausscheidung desselben durch die Nieren wie in der Norm weitergeht. Schwächung des Blutkreislaufs schränkt secundär die Wasserausscheidung durch die Niere ein; hebt aber ein Gift primär das Wasserausscheidungsvermögen der Niere auf, so muss die Körpergewichtszunahme der Kreislaufschädigung zeitlich vorangehen, wie dies in unserem Fall von Silbervergiftung zu beobachten war. Dass das Silber die Niere pharmakologisch beeinflusst, geht deutlich aus den Versuchen W. Cohnstein's (1) hervor, die er in von Schroeder's Laboratorium in Heidelberg im Jahre 1892 ausführte. Bei dieser « Edelmetalldiurese » wie sie von Schroeder kurz bezeichnete, haben wir anfängliche eine vermehrte Tätigkeit der Wasser secernirenden Abschnitte der Niere, der bei grösseren Dosen eine rasche Verringerung der Harnsecretion mit reichlichem Eiweiss sich offenbar sehr leicht anschliesst. Uebrigens gelang es mir durch noch kleinere Silbermengen = 0,0006 und 0,0012 g. Ag-Metall, besonders wenn ich sie in der anodischen Form des unterschwefligsauren Natriumdoppelsalzes injicirte, wiederholt allerdings geringfügigere Körpergewichtszunahmen zu constatiren, die nach einigen Tagen wieder zurückgingen, sogar noch etwas unter das Ausgangsgewicht.

VERSUCHSBEISPIELE :

	vor d. Inject.	nach 8 St.	nach 1 Tag.	nach 2 Tag.	nach 3 Tag	nach 4 Tag.	nach 5 Tag.	nach 6 Tag.	nach 7 Tag.
R. escul. 0,0006 Ag.	38 g.	40 g.	45 g.	44 g.	44 g.	42 g.	40 g.	38 g.	37 g.
R. temp. 0.0006	38 g.	41 g.	42 g	43 g.	41 g.	41 g.	38 g.	36 g.	36 g.
R. temp. 0,0012	39 g.		41 g.	42 g.	44 g.	42 g.	39 g.		

Ausser dieser Nierenwirkung sind noch andere Ursachen für die Gewichtszunahme denkbar; ihre Discussion und experimentelle Bearbeitung liegt jedoch ausserhalb des Rahmens dieser Untersuchung. Der geringe Ionengehalt des Sophols ist offenbar für das Zustandekommen

(1) *Ueber den Einfluss einiger edlen Metalle (Quecksilber, Platin und Silber) auf die Nierensecretion.* — Archiv f. exp. Path. u. Pharm. Bd. 30, S. 125.

dieser subacuten allgemeinen Vergiftung belanglos, denn die subcutane Injection von Chlorsilber, in 1 %-iger Gelatinelösung durch überschüssige 1 % ClNa-Lösung unmittelbar vor der Injection erzeugt, tödtete die Frösche ebenfalls erst in einigen Tagen unter Gewichtszunahme. In dieser colloidalen Chlorsilberlösung waren selbstverständlich noch weniger Ag-Ionen als in der Sophollösung enthalten. Bei der Auflösung von Chlorsilber in Natriumhyposulfit, wie sie GÄTHGENS u. A. benützten, um durch subcutane Injection die Giftwirkungen des Silbers zu erzeugen, entsteht sogar eine anodische complexe Silberverbindung, die noch viel ionen ärmer ist nach OSTWALD's (1) Messungen als Chlorsilber. Für alle Arten *localer* Anwendung ist der Ionengehalt des benutzten Silberpräparates sehr wesentlich und wie bei den zuerst beschriebenen Versuchen über « Tiefenwirkung » der 1/2 %-igen Höllensteinlösung Sophollösungen von gleichem Silbergehalt nicht einmal den Epithelüberzug der Fischschwanzflosse beschädigten oder zerstörten, so verhielt sich das Sophol auch in Bezug auf die ***adstringirende*** Wirking so, wie es sein geringer lonengehalt vorraussehen liess. Das Wesen der Adstringirung beruht wie bei der Lederbildung auf der Entstehung unlöslicher Niederschläge der Eiweiss- und Leimsubstanzen der Häute mit der Gerbsäure der Lohbrühe oder bei der Mineralgerberei mit den Eisensalzen oder Chromsalzen. Applicirt man z. B. eine 1/2 %-ige Höllensteinlösung auf eine lebende oder überlebende tierische Membran, so wird diese durch die Einlagerung der Silberniederschläge der Eiweiss- und Leim gebenden Substanzen etwas weniger geschmeidig d. h. weniger dehnbar werden, als sie normaliter war.

Da mir in der pharmakologischen Litteratur diesbezügliche messende Versuche nicht bekannt sind, bemühte ich mich an der herauspräparirten Froschlunge, die eine sehr dünne Blase mit netzartiger Verstärkung durch die Gefässverzweigungen vorstellt, die normale Dehnbarkeit und deren eventuelle Aenderung nach dem Baden in Sophollösung sowie nach dem Baden in 1/2 % Höllensteinlösung in Maas und Zahl auszudrücken. Ich band zu diesem Zweck bei einem frisch getödteten Frosch eine Glascanüle in die kurze Trachea ein; stets konnte nur ein Lungenflügel benutzt werden. Das freie Ende der Glascanüle wurde mittelst eines Gummischlauchs an das obere verjüngte Ende einer circa 30 cm. langen, weiten Glasröhre angefügt. Tauchte man jetzt das untere offene Ende dieser Röhre in einen hohen mit Wasser gefüllten Glasstutzen, so wurde die zuerst collabirte Lunge mehr und mehr entfaltet und gedehnt. Ich maass die Dehnbarkeit der stets mit Wasser befeuchteten Lunge, indem ich an einem unmittelbar neben dem Glasstutzen aufgestellten

(1) Allgem. Chemie II. 1, 882.

Millimetermaasstab das untere Ende der eingeschlossenen Luftsäule jedes Mal ablas, wenn das freie Ende der Glasröhre um je 5 cm. tiefer unter den Wasserspiegel gesenkt wurde. Hätte das Baden in Sophollösung eine Adstringirung bewirkt, so hätte sich diese in einem erhöhten Widerstand gegen die Dehnung beim Eintauchen zu erkennen geben müssen : dies war aber bei keinem Sopholversuche der Fall, wohl aber als ich die Froschlunge in 1/2 °/₀ oder 1 °/₀ Höllensteinlösung badete (mindestens 2 Minuten lang), wie nachstehende Versuchszalen zeigen.

	Unteres Rohrende bei :					
	5 cm.	10 cm.	15 cm.	20 cm.	25 cm.	28 cm.
	Unteres Ende der Luftsäule unter der Wasseroberfläche :					
Normalzustand :	1,3—1,5	2,5—2,6	5,7	9,9—10,1	14,5—14,6	17,3 cm.
In 1 °/₀ Ag NO_3 gebadet :	1,5—1,4	3,0—3,1	6,7	11,4	16,0	18,6 cm.

Da in beiden Dehnungsversuchen das abgesperrte Luftvolum dasselbe war, so sind die Unterschiede ausschliesslich durch die gesteigerte Widerstandsfähigkeit des mit Silbernitrat « gegerbten » Lungengewebes verursacht. Beim 5 cm. tiefen Eintauchen war die Capacität des bei o cm. collabirten Lungenflügels anscheinend erreicht, so dass die Lunge gerade entfaltet war; von da ab nimmt ihr Widerstand allmälig zu. Bedenkt man wie äusserst gering die Tiefenwirkung des Silbernitrats an der Schwanzflosse war, so findet man dieses Ergebniss schon ganz ansehnlich.

Infolge dieser geringen Tiefenwirkung des Silbernitrats passirte es mir sogar zwischen hinein, dass die Adstringirung mit Silbernitrat genau die Normalzahlen der betreffenden Lunge wieder ergab. Die Ursache war, dass ich absichtlich unterlassen hatte, die Lunge mit reinem Wasser zu baden (selbstverständlich nicht mit physiologischer Kochsalslözung, denn diese hätte mir sicher eine schützende Decke von Chlorsilber gegeben); die adhärirenden Gewebsflüssigkeiten bildeten dank ihres Eiweissgehaltes eine Fällungsmembran, die offenbar nach Art der Traube'schen Membranen die Silberionen nicht durch sich hindurchtreten und an die äussere Lungenoberfläche selbst herangelangen liessen. Wichtig ist ferner, dass man sich nicht mit der ersten Normalbeobachtung begnügt, sondern unter öfterem Abspülen mit reinem Wasser die Normalmessungen so oft wiederholt, bis sie gut mit einander übereinstimmen.

Versuchen wir schliesslich aus vorstehenden Resultaten die Indicationen für ein Silberpräparat von den Eigenschaften des Sophols abzuleiten, so ergibt sich : Die fehlende Aetzwirkung ist ein entschiedener Vorzug vor dem Höllenstein, der auch in 1/2 °/₀ Lösung die Epitheldecke, den physiologischen Schutz der darunterliegenden Schleimhaut weg-

rasirt. So lange es sich um noch auf der Oberfläche haftende Infectionskeime handelt, muss die antiseptische Ausspülung mit dem schonenden Sophol bevorzugt werden, dessen Desinfektionskraft im Contakt mit den kochsalzhaltigen Gewebsflüssigkeiten nicht geringer als die des Höllensteins zu bewerten ist; haben die Infectionserreger aber das Epithel bereits durchwandert, so vermag dieses auch keinen Schutz mehr zu leisten und seine chemische Abtragung durch die Aetzwirkung des Höllensteins ist der notwendige therapeutische Eingriff; die Adstringirung der blosliegenden Gewebe setzt dem weiteren Eindringen infectiösen Materials von der Oberfläche her einen antiseptischen Wall entgegen. Die wesentliche Indication des Sophols ist daher die von O. von Herff klinisch bereits durchgeprüfte und bewährt gefundene: zur prophylaktischen Ausspülung der Augen Neugeborener.

Travail du laboratoire de Thérapeutique de l'Université de Louvain,
Directeur : Professeur M. Ide.

Sur le mécanisme de l'intoxication digitalique,

par

le Dr YERNAUX NESTOR.

Historique.

L'histoire de la digitale pourrait se diviser en quatre périodes, pour autant que les faits historiques se laissent grouper. On pourrait aussi grouper les études faites sur cette drogue en plusieurs catégories d'après le point de vue auquel les chercheurs se sont mis. Naturellement, aucune de ces divisions ne permet des séparations radicales, certains observateurs ayant observé les effets de la digitale de la façon la plus diverse.

Pourtant on ne peut suivre simplement l'ordre chronologique dans l'exposé de cet historique, le lecteur n'en retiendrait aucune impression d'ensemble; en effet, il n'y a peut-être aucune drogue dont les effets ont prêté à tant de discussions, et ont livré autant de contradictions (apparentes du moins) dans les faits; la digitale n'a pas été moins étudiée que la quinine pendant le XIXe siècle, avec cette différence que depuis vingt ans l'étude physiologique de la quinine est presque abandonnée tandis que l'étude de la digitale continue de tenter les physiologistes et les thérapeutes.

Il y a un autre point qui nous effraie en abordant cette histoire : toutes les grandes autorités scientifiques sont intervenues dans le débat sur l'action physiologique de la digitale. Sans compter les noms des grands cliniciens qui presque tous ont parlé de cet important médicament, nous y voyons s'entremêler ceux de Traube, Vulpian, Du Bois-Reymond, Schmiedeberg, Kobert, Böhm, F. Franck, Talma, Sahli, Héger, Stokvis, Lauder Brunton, Gottlieb, Magnus. Non seulement

les chefs de laboratoire ont poussé des élèves vers l'étude de la digitale, mais la plupart d'entre eux sont intervenus personnellement pesant de toute leur autorité sur les opinions de leurs contemporains. Il est vrai que la valeur d'une opinion ne résulte que des faits sur lesquels elle s'appuie, et nous rapporterons surtout les données objectives sans insister sur les conceptions théoriques qui les ont accompagnées.

On peut grouper de la façon suivante les études sur la digitale :

1º Les observations cliniques qui ont commencé à la fin du XVIIIe siècle, qui se sont multipliées pendant la 1re moitié du XIXe, sans être accompagnées d'expérimentation sur les animaux.

2º La période de TRAUBE : le ralentissement du pouls et les rapports de ce phénomène avec le nerf vague furent l'objet de vives discussions.

3º La période des observations sur le cœur de grenouille isolé ; les effets de la digitale sur le cœur isolé de grenouille frappèrent si vivement les observateurs que tous les autres phénomènes furent relégués au second plan. Nous devons annexer à cette partie déjà ancienne, l'étude du cœur isolé des mammifères.

4º Les études sur la vaso-constriction périphérique : ces observations difficiles, souvent contestables dans leurs résultats, furent constamment reprises et perfectionnées jusqu'en ces derniers temps.

Après avoir rapporté les études qui se classent naturellement dans ces 4 groupes, il resterait des travaux isolés à faire remarquer, et travaux des plus précieux parfois, mais moins connus parce qu'ils n'apportaient pas d'argument direct dans les discussions.

I. — Période des observations cliniques.

C'est une erreur de croire que ce sont les retentissantes expériences de Traube en 1851 qui ont introduit l'usage de la digitale. Les propriétés thérapeutiques principales de la digitale ont été bien reconnues dès la fin du XVIIIe siècle en Angleterre. Mais l'isolement géographique de l'Angleterre influence la vulgarisation des notions médicales qui s'y développent. C'est W. WITHERING (1), de Birmingham, qui reconnut le ralentissement digitalique du pouls chez les malades. Dans une dissertation inaugurale de Gœttingue de la même époque, SCHIEMANN (2) retrouve le même phénomène chez les chiens et les chats.

Au commencement du XIXe siècle d'autres Anglais ont bien observé

---

(1) WITHERUNG : Edinburgh mec. Soc., 1779.
An account of the Foxglove. Birmingham and London 1785.

(2) SCHIEMANN : *De Digitali purp.* Gœttingen 1786.

l'influence de la digitale sur la circulation : BEDDOËS (1), MOSSMANS (2) et KINGLAKE (3) reconnaissent que la tension devient meilleure, le pouls lent est plus fort et plus bondissant : FERRIAR (4) reconnait l'influence diurétique du médicament, et il l'attribue au ralentissement du pouls.

Quand la réputation de la digitale eut enfin passé le détroit, ce fut le tour des autorités médicales de France et d'Italie à s'occuper d'elle. BIDAULT DE VILLIERS publia une première monographie de la digitale comme thèse doctorale à Paris en l'an XII. RASORI s'en occupa en 1811. Puis ce fut une répétition constante des constatations interprétées de façons diverses pendant cette première moitié du XIXe siècle, où la médecine traîna si lourdement les théories traditionnelles.

Le clinicien SCHÖNLEIN, de Berlin, l'ancien maitre de TRAUBE, utilisait la digitale et disait : « Sans la digitale je ne saurais comment pratiquer la médecine ! »

Mais il faut se rapporter aux théories médicales de l'époque pour comprendre la radicale différence qui existe malgré tout entre les indications d'il y a un siècle et d'il y a un demi-siècle et celles que nous en tirons aujourd'hui. On traitait les œdèmes sans distinction de cause, on croyait que la diurèse était favorisée par un abaissement de la tension sanguine, on croyait que dans les anuries le sang était trop épais et obstruait les vaisseaux tout comme les canaux rénaux s'obstruaient par le mucus : on croyait surtout que les fièvres dépendaient d'une accélération du cours du sang, et la digitale comme *contre-stimulant* calmait le pouls et combattait les fluxions, phthisies, pneumonie, méningites, fièvre puerpérale, fièvre typhoïde, scarlatine, etc. Quand l'usage du thermomètre au lit du malade fut généralisé, la discussion s'engagea violente sur l'action apyrétique de la digitale. Plus récemment encore la digitale fut préconisée à haute dose pour couper la pneumonie et les bulletins de nos académies relatent la longue discussion que soulevèrent les expériences cliniques du professeur MASIUS (5).

La digitale s'est adaptée ainsi aux théories médicales des différentes époques, toujours prônée de plus en plus comme agent fidèle et actif sans être dangereux.

---

(1) BEDDOES : *Observations on the medical and domestic management of the consumptive*. London, 1801.

(2) D'après BIDAULT : *Essai sur les propriétés médicales de la digitale*. Thèse. Paris, 1803 (an XII).

(3) KINGLAKE : *Cases and Observations on the medical efficacy of digitalis purp. in phthisis etc.* London, 1801.

(4) JOHN FERRIAR : *An essay on the medical properties of the Digitalis*. London and Manchester, 1799.

(5) MASIUS : Bulletins de l'Académie royale de médecine de Belgique, 1892-1893.

Les indications pour les affections cardiaques furent admises depuis la fin du XVIII[e] siècle en Angleterre; sur le continent la digitale fut constamment employée pour tous les troubles circulatoires et urinaires sans distinction.

Les théories nées dans les laboratoires, ont introduit çà et là une restriction à son usage dans certaines affections telle l'insuffisance aortique et la dégénérescence sénile : mais malgré la théorie ces contr'indications ont vite disparu. Et on pourrait dire encore aujourd'hui avec TALMA et v. D. WEYDE (1) que les indications ne résultent pas des faits expérimentaux et que nous ne pouvons pas les légitimer scientifiquement.

Mais la science thérapeutique n'aura pas trouvé de repos avant d'avoir démontré le lien logique qui unit le médicament à la lésion pathologique, et comme la connaissance parfaite des propriétés du médicament doit nous apporter beaucoup de précision et de certitude dans son emploi, tous les efforts pour définir mieux l'action de ce grand moyen thérapeutiquc seront très utiles à la pratique.

Nous verrons dans les pages qui suivent ce que l'expérimentation sur l'animal nous a déjà appris.

PÉRIODES EXPÉRIMENTALES.

PRÉLIMINAIRES : *Le groupe des médicaments digitaliques.*

SCHMIEDEBERG (2) accentuant des théories déjà ébauchées sur ce sujet, a rangé en un groupe tous les poisons qui tuent le cœur de grenouille en *systole* avant d'entrainer d'autres graves altérations.

Schiedeberg ne classe pas moins d'une vingtaine de substances dans ce groupe : certes si l'on s'en tenait à sa définition rigoureuse ce groupe existe; mais une similitude d'action sur la grenouille (similitude d'ailleurs d'observation très superficielle) ne doit pas entraîner une similitude dans les effets à produire sur le système circulatoire si complexe du mammifère. Or c'est la tendance de plusieurs écoles, d'étendre d'emblée à tout le groupe digitalique, les observations faites sur un membre du groupe.

Il nous serait facile de baser notre critique sur une foule de citations : tenons-nous en à celles des grandes autorités.

Schmiedeberg préconise l'Helléboréine comme médicament pour les cardiaques et comme LEYDIG n'en a pas vu d'effets, il propose d'essayer

(1) S. TALMA und A. J. v. D. WEYDE : Zeitschr. fur klin. Medicin, IX, 1885, p. 280.

(2) SCHMIEDEBERG : Arch. f. exper. Path. und Pharm., 16, 1883.

de plus hautes doses. Ses élèves, WILLIAMS (1), DRESER (2), BOCK (3), WIBAUW (4) se contentent de faire des expériences sur l'helleboréine pour conclure à tout le groupe de la digitaline. KOBERT (5) fait 19 expériences sur l'helleboréine, 16 sur d'autres succédanés divers et 4 sur la digitaline de Schmiedeberg et il conclut, sans distinction pour tout le groupe, à une action purement musculaire tant vasculaire que cardiaque.

MAGNUS et GOTTLIEB (6) ne font plus guère de séparation entre les médicaments du groupe; ils n'admettent que des différences d'intensité dans l'action. Dans leurs publications successives sur la vaso-constriction et sur le travail du cœur isolé il ne s'agit pour ainsi dire que de la strophantine et de la convallamarine. Dans le mémoire de 1901 (7) sur 52 expériences, 4 seulement se rapportent à la digitoxine ou digitaline et malheureusement dans 3 cas, les doses administrées étaient plusieurs fois mortelles. Dans les mémoires de 1902 et 1903 les digitalines ne sont presque plus employées.

Le mémoire sur la circulation cérébrale présente un diagramme explicatif concernant la digitoxine, et il s'agit malheureusement d'une dose qui semble avoir tué en une minute après l'injection; et il est parlé d'une autre expérience dont il n'y a guère de détails. Les convictions ne sauraient s'établir de cette façon. Le mémoire (8) sur les modifications du travail du cœur ne donne plus qu'un seul chiffre peu significatif p. 56, concernant la digitoxine : tout le reste fut obtenu avec la strophantine.

CUSHNY (9) dans son magnifique travail précédé d'un historique judicieux, fait pourtant toute son étude critique sans distinguer les faits acquis pour les différents alcaloïdes du groupe ; il expérimente lui-même en variant constamment la drogue appliquée : strophantine, antiarine, erythrophlœine, convallamarine et digitoxine. Il admet (p. 244) que ces drogues diffèrent entre elles quant à l'intensité de leur attaque pour chaque organe, il reconnait qu'une étude comparative en serait très intéressante; mais avant que cette étude comparative soit faite, il se permet d'affirmer que l'action est toujours du même genre « identical in kind, although varying in strength » et pour éviter les répétitions, il admettra, dit-il, que ce qui est vrai d'une drogue du groupe l'est aussi

---

(1) WILLIAMS : Arch. f. exp. Path. u. Pharm., 13, 1881.
(2) DRESER : ibid., 27, 1887.
(3) BOCK : ibid., 41, 1898.
(4) WYBAUW : ibid., 44, 1900.
(5) KOBERT : ibid., 22, 1887.
(6) GOTTLIEB u. MAGNUS : ibid., 47, 1901.
(7) id. ibid., 48, 1902.
(8) id. ibid., 51, 1903.
(9) CUSHNY : Journal of exper. Med., 2, 1897.

pour les autres; il emploiera même le terme « digitalis » alors qu'un autre poison du groupe digitalique a été employé. Et effectivement de toutes ses expériences *détaillées*, nous n'en voyons pas une seule qui se fit à la digitale, et parmi ses graphiques deux seulement des vingt présentés furent livrés par la digitaline : le principal tracé est absolument exceptionnel dans son allure. Cushny l'accompagne de la remarque « There is no slowing nor any other symptom of vagus action in this tracing, although atropin had not been injected and the nerves were intact. » Cette phrase marque bien l'étonnement de l'auteur, étonnement trop passager, hélas !

Cette manière de procéder est vraiment exceptionnelle, et malheureusement comme on le voit elle est parfaitement reçue dans le monde scientifique allemand et anglais.

Heubel (1) remarque pourtant que le cœur de grenouille arrêté par l'helleboréine ou la strophantine (à dose relativement moindre) n'est pas ressuscitable, alors qu'arrêté par les doses massives de digitale il revient encore à la vie. Comme nous le verrons dans notre propre expérience l'helléboréine ne saurait être comparée à la digitaline et nous estimons qu'il faut revenir à la règle élémentaire : de ne pas conclure d'une drogue à une autre. On n'oserait pas conclure de la morphine à la codéine, ni de la morphine à l'apomorphine, mais on ose assimiler 20 drogues inconnues dans leurs rapports chimiques, tirées des plantes les plus diverses. Cette erreur de logique pèsera lourdement sur toute la littérature de notre génération concernant ce sujet. On regrette vraiment de voir tant de louables efforts se dépenser sur l'helléboréine, la convallamarine et d'autres, alors que la digitale est reléguée au second plan.

Comme premier effet il résulte de tout ceci une confusion regrettable dans l'exposé bibliographique de beaucoup d'auteurs (Cushny, Magnus, Schmiedeberg); et bien des faits considérés comme établis, ne le sont plus du tout si on ne tient compte que des bonnes expériences faites avec la digitale elle-même.

Il serait plus regrettable encore de voir s'étendre ces tendances généralisatrices à la pratique médicale, comme on y a poussé de plusieurs côtés.

Dans notre exposé, nous ne tiendrons compte que de ce qui relève directement des principes digitaliques : notre propre expérience tout comme l'examen critique de la littérature nous ont suffisamment montré qu'on ne peut, pas plus ici qu'ailleurs, assimiler à priori des drogues différentes.

---

(1) Heubel : Pflugers Arch., 45, 1889.

II. — Période de Traube.

Ce n'est pas que TRAUBE fut le premier à expérimenter sur la tension sanguine des chiens intoxiqués par la digitale : BLAKE (1) en 1839 avait suivi les baisses et hausses de la tension au moyen de l'hémodynamomètre. Mais les expériences de Traube mirent la théorie sur une toute nouvelle voie, et pour bien le saisir il faut se rappeler le moment de cette découverte.

En 1845, les célèbres professeurs WEBER, de Leipzig, avaient découvert l'action inhibitive du pneumogastrique et de la moelle allongée correspondante. L'interprétation du phénomène par l'hypothèse de l'inhibition fut bien combattue quelque temps par d'autres physiologistes (SCHIFF, BUDGE, BROWN-SÉQUARD et GOLTZ), mais en Allemagne l'interprétation des Weber fut vite en honneur, d'autant plus que la méthode graphique introduite par LUDWIG en 1847 montra bientôt ce phénomène exceptionnel sous toutes ses formes. Or voilà que TRAUBE (2) constate en 1851 chez le chien digitalique un pouls aussi ralenti que si on excitait légèrement les nerfs vagues, et dès qu'il coupe les deux nerfs vagues, le ralentissement est remplacé par le retour brusque à la normale, parfois à une accélération plus forte qu'à l'état normal; peu importent les conséquences que Traube en tirait, hativement peut-être, concernant la tension artérielle qu'il présumait affaiblie. Bientôt BRIQUET (3) et LENZ (4), puis TRAUBE lui-même (5) constatent que la tension sanguine monte chez le chien pendant que le pouls se ralentit. Cette constatation ne permettait plus d'attribuer tous les phénomènes à une pure influence inhibitive des nerfs vagues, car Ludwig et Hoffa avaient déjà démontré que la marche ralentie du cœur abattait la tension sanguine. WINOGRADOFF (6) ne voit pas la tension sanguine se modifier pendant que le pouls change, et la section des nerfs vagues n'accélère parfois pas le pouls. Traube finit alors par admettre outre l'action des nerfs vagues, une action nerveuse musculo-motrice sur le cœur. Plus tard ACKERMANN (7) démontre que l'atropine empêche aussi l'apparition du ralentissement digitalique du pouls comme elle empêche l'excitation galvanique des nerfs vagues de produire leur effet.

---

(1) BLAKE : Edinburgh med. Journal. Avril 1839.

(2) Berliner Charité-Annalen. 1851.

(3) BRIQUET : Traité thérapeutique du quinquina. Paris 1853.

(4) LENZ : *Experimenta de ratione inter puls. frequentiam, sanguinis pressionem etc.* Diss. Dorpat, 1853.

(5) TRAUBE : Medic. Centralzeitung, Nov. 1861.

(6) WINOGRADOFF : Virchows Archiv. 22, 1861.

(7) ACKERMANN : Deutsches Arch. f. klin. Medic. XI, 1872.

Mais entretemps les expériences sur le cœur de grenouille venaient ébranler les partisans de Traube : déjà GOURVAT (1) rejette l'interprétation de Traube et finalement BOEHM (2) nia catégoriquement l'influence de la section des nerfs vagues : le pouls du chien curarisé est manifestement ralenti par la digitale, dit Boehm, mais la section des nerfs vagues n'a jamais réussi à lui montrer une accélération. Et ainsi fut enterrée la théorie de Traube, du moins pour Schmiedeberg, pour Kobert et pour la majorité des thérapeutes.

Remarquons toutefois que ces opinions exclusives s'appuyaient en même temps sur des phénomènes analogues observés pour l'helléboréine, dont l'action cardiaque est beaucoup plus marquée.

STOKVIS (3) reprend et défend l'interprétation de Traube au moins pour le premier stade de l'action digitalique. Il voit les phénomènes comme Traube : coupez le nerf vague au cou ou mieux envoyez dans la circulation de l'atropine et le *pulsus rarus et magnus* disparait comme par enchantement. Stokvis passe sous silence les négations de Boehm ; on ne peut pourtant pas considérer comme non-avenues les affirmations catégoriques du privatdocent Boehm, travaillant chez FICK, alors que toute l'attention était attirée sur un sujet si controversé. Il y a là une contradiction dans les faits dont nous verrons l'origine et l'explication dans nos propres expériences. Sans aucun doute Traube, Boehm et Stokvis ont constaté ce qu'ils ont décrit, mais on voit à quelles discussions peuvent mener des affirmations qui paraissent aussi nettement contradictoires.

L'école anglo-américaine est plus libre dans ses opinions. BRUNTON (4) admet au premier stade l'influence inhibitive des nerfs vagues : il admet en même temps une forte action sur le muscle cardiaque et sur les vasomoteurs. CUSHNY (5) admet aussi le ralentissement par inhibition ; mais ses convictions dépendent bien plus d'expériences faites sur le groupe digitalique que sur la digitaline. Le chien curarisé et digitalique dont il donne les graphiques ne présente précisément pas de ralentissement !

III. — Études sur le cœur de grenouille.

Les expériences sur le cœur de grenouille sont si faciles à réaliser, et l'influence de la digitale est si nette et si frappante, du moins pour la *rana temporaria*, que les discussions à ce sujet n'ont guère été possibles.

Mais les phénomènes que présente le cœur de grenouille intoxiqué

---

(1) GOURVAT : Gazette médicale de Paris, 1871.

(2) BOEHM : Arch. f. An. et Phys. V, p. 186.

(3) STOKVIS : *Voordrachten over Geneesmiddelleer*. Haarlem 1902, 3e deel, p. 19.

(4) L. BRUNTON : The action of medicines 1897. Londres.

(5) CUSHNY : Journ. of exper. med. II, 1897.

par la digitale ont trop vivement frappé les observateurs, surtout ceux qui n'ont expérimenté ce médicament que sur cet organe. Les discussions théoriques ont presque constamment pris leur point d'appui sur l'intoxication du cœur de grenouille : faut-il croire que beaucoup de savants se laissent entraîner par les tendances à la généralisation ? Nous lisons dans un mémoire sur la digitale daté de 1895 et signé d'un des plus grands noms de la physiologie contemporaine, ces quelques lignes imprudentes :

« La mort du cœur, considérée comme une mort en diastole chez « les mammifères, par une opposition inadmissible au point de vue de la « physiologie générale avec la mort en systole du cœur des animaux « à sang froid, doit être envisagée dans tous les cas comme une mort « subite en tétanos suivi de paralysie du myocarde. »

Les résultats obtenus chez la grenouille n'intéressent pas directement nos observations : nous nous servirons bien de la grenouille, mais seulement comme réactif électif pour la digitale, et sans chercher à apporter de nouvelles connaissances à ce sujet. Nous serons donc succinct dans cet exposé.

Au moment où Traube commençait ses études sur le chien, STANNIUS (1) étudiait surtout l'influence de la digitale chez la grenouille blessée à la peau et plongée dans une solution de digitale : il constata que le cœur meurt avant que d'autres symptômes notables interviennent dans le reste de l'animal, et le cœur arrêté est inexcitable par l'électricité.

VULPIAN (2) en 1855 communique à la Société de Biologie le résultat d'inoculations de digitaline en poudre sous la peau de la grenouille. Les doses étaient sans doute énormes. Sur un premier groupe de grenouilles le physiologiste français reconnaît toutes les péripéties souvent décrites plus tard encore. Mais ultérieurement Vulpian jette lui-même un doute sur ses premiers résultats en faisant remarquer que ses premières grenouilles étaient épuisées par le froid et le jeûn, et que les mêmes expériences sur des grenouilles vigoureuses donnent d'autres résultats, notamment l'action élective sur le cœur n'est plus si nette, « il n'est pas rare de trouver l'irritabilité (musculaire) éteinte dans toutes les parties du corps, si ce n'est dans le cœur qui continue encore à battre pendant plus d'une heure après la mort. Il y a lieu de croire que les premières grenouilles de Vulpian étaient des grenouilles vertes et les secondes des grenouilles rousses.

Vulpian remarque l'innocuité complète de la digitale pour les crapauds,

(1) STANNIUS : Archiv für Physiol. Heilkunde, X, 1851.
(2) VULPIAN : Soc. de Biologie, 1855 (d'après Gourvat).

et il reconnaît aussi que l'intoxication préalable au curare ne change rien aux phénomènes digitaliques de la grenouille.

Mais c'est surtout à Dybkowsky et Pelikan (1) qu'on fait remonter l'honneur d'avoir mis sous son vrai jour l'influence de la digitale. Ils constatent l'arrêt systolique du ventricule alors que l'animal est encore capable de sauter; les oreillettes restent en diastole. Avant l'arrêt du cœur il y a une période d'excitation dans certains cas. Les phénomènes ne sont pas influencés par la destruction préalable de tout le système nerveux central. Pourtant ça et là on voit sur l'animal intact des ralentissements du cœur analogues à ceux de l'excitation pneumogastrique.

Puis Meyer (2) et Fothergill (3) firent quelques expériences dans le même genre, qui n'apportaient rien de bien neuf à notre sujet.

Entretemps la méthode de l'isolement complet du cœur de grenouille avait été élaborée avec une grande perfection au laboratoire de Ludwig (Cyon, Coats, Bowditch, Kronecker). Utilisant cette méthode Boehm (4) put mesurer plus exactement ce qui se passe dans le cœur de grenouille intoxiqué.

Le plus souvent les petites doses de digitale augmentent d'abord le travail du cœur tant dans l'unité du temps que par pulsation; plus tard le travail du cœur se réduit rapidement sous la normale (p. 175).

Le cœur travaillant à la limite de sa charge maximale (p. 174) ne retire plus de bénéfice de la digitale : il aurait été intéressant de voir le contraire puisque le médicament doit intervenir quand la charge dépasse les forces du cœur.

La mesure de l'excitabilité du nerf vague (p. 164) montre que les terminaisons inhibitives de ce nerf sont devenues plus excitables : des courants induits si faibles qu'ils n'arrivaient pas à provoquer l'arrêt du cœur avant l'intoxication, produisent leur plein effet sur l'animal intoxiqué. Et ce centre ne meurt pas avant le cœur.

L'influence simultanée de la digitale et de divers autres poisons (p. 161) peuvent se résumer comme suit :

Le *curare* et *l'atropine* ne modifient rien à l'intoxication digitalique du cœur de grenouille.

La *muscarine*, qui arrête le cœur par excitation du centre inhibitif intracardiaque, est combattue par la digitale : le cœur arrêté par la muscarine se remet lentement et tardivement par l'irrigation digitalique; l'atropine et la vératrine sont bien plus efficaces contre la muscarine.

---

(1) Dybkowsky u. Pelikan : Zeitschrift für wissenschaftl. Zoologie, XI, 1862.
(2) A. Meyer : Arbeiten aus dem physiol. Institut zu Zürich. 1869.
(3) J. Milner Fothergill : British med. Journal. 1871.
(4) Boehm : Pflügers Arch. V, 1872.

L'aconitine donnée après la mort digitalique, reste impuissante : par contre le cœur en arrêt aconitique ressuscite par la digitale.

Les rapports de la digitaline et de la delphinine sont inconstants.

Etudiant enfin le cœur des mammifères, il nie, comme nous l'avons vu plus haut, l'influence des nerfs vagues, et prend une série de 8 courbes au manomètre de Fick. Le chien qui livre ces tracés importants a reçu 3 ccm. d'infusé à 2/150 (poids du chien non indiqué) il était curarisé et avait les deux vagues coupés. L'auteur voit dans ces courbes suffisamment d'indices pour conclure que les modifications du pouls dépendent de l'excitabilité exagérée du muscle et de son augmentation d'énergie (vermehrte Leistungsfähigkeit). En réalité, on n'y voit d'une façon convaincante qu'une grande irrégularité des battements, car ces courbes ne sont accompagnées ni d'une échelle donnant la valeur de la tension, ni de celle du temps, ni de renseignements sur le stade de l'intoxication.

Ces expériences sur le chien, trop rapidement faites, font aboutir l'auteur de la même façon à la négation d'une intervention des vaso-constricteurs périphériques (p. 189). Les travaux ultérieurs sur le cœur de grenouille n'apportent plus grand chose.

TALMA et VAN DER WEYDE (1) trouvent comme Boehm que le cœur surchargé n'améliore pas son travail par la digitale. Mais dans les intoxications par le tartre émétique et par la quinine surtout, la digitale améliore la systole. Ce long travail étudie surtout la vaso-constriction périphérique.

SCHMIEDEBERG (2) apporte peu d'expériences nouvelles : chez le mammifère profondément chloralisé, la digitaline augmente la tension; il discute d'autorité toutes les objections qui gênent sa théorie sur l'influence purement cardiaque de la digitale. Il ne reconnait ni vaso-constriction, ni influence du nerf vague et nous verrons plus loin combien son appréciation d'un travail de Weil, nous parait peu logique.

Action sur le cœur des mammifères.

Le ralentissement du cœur de chien au début de l'intoxication, son accélération ultérieure, la mort finale en diastole a été constatée depuis plus d'un siècle. L'interprétation donnée d'abord par Traube a été combattue énergiquement; un groupe d'auteurs sont intervenus par des expériences directes sur le mammifère, en constatant les hausses de tension sanguine, ou comme Boehm en niant le fait lui-même par ses

(1) TALMA et A. V. D. WEYDE : Zeitschr. . klin. Med. IX. 1885.
(2) SCHMIEDEBERG : Arch. f. exp. Path.. 16. 1883.

expériences sur le chien curarisé. Le plus ordinairement les convictions ont été établies par l'expérience sur le cœur de grenouille.

Si on compare, dit Williams (1), la courbe livrée par le cœur de grenouille isolé et celle de la tension carotidienne du chien digitalique, elles se correspondent extraordinairement bien, *so ist die Uebereinstimmung Beider ausserordentlich gross.*

L'opinion de Boehm au sujet de la digitale était très catégorique en 1871 : les modifications du cœur seul interviennent. Nous avons vu plus haut sur quelles raisons il s'appuie. Il faut reconnaître qu'il est revenu bientôt de son opinion exclusive concernant les vaso-moteurs (2).

Schmiedeberg en 1883, est tout aussi exclusif.

Kobert (3) en 1887, admet sans l'étudier que l'action de la digitale sur le cœur et sur les vaisseaux est d'ordre purement musculaire (p. 106).

F. Franck (4) a exploré directement les ventricules du chien par des petites sondes pendant l'intoxication digitalique ; il attribue au premier stade un renforcement à la *systole* des 2 ventricules, quant à la *diastole* il lui reconnaît une plus grande brusquerie d'abord, puis une plus grande profondeur. Les petites courbes qui accompagnent son mémoire nous semblent ne montrer bien nettement que le synchronisme des deux ventricules aux différents stades connus de l'intoxication mortelle. Nous faisons abstraction de ce que dit Franck concernant la résistance diastolique et la mort en tétanos suivi rapidement de relâchement du myocarde.

Pour Franck le ralentissement digitalinique avec augmentation de l'énergie du cœur est semblable à celui qu'on obtient par les excitations directes simultanées des nerfs modérateurs et accélérateurs (sans courbe à l'appui de la thèse).

Stephani et Gallerani (5) ont étudié la *pression péricardique* nécessaire pour empêcher la circulation et ont trouvé qu'elle se modifie par la digitale, mais cette pression insuffisamment interprêtée par ces auteurs semble agir plus sur les veines que sur le cœur lui-même.

Fraenkel (6) par le tonographe de Hürthle, étudie les fins détails de la courbe du pouls et en conclut que l'énergie de chaque systole est augmentée.

Hemmeter (7) mesure la rapidité du passage du sang dans l'artère

---

(1) Williams : Arch. f. exp. Path. u. Pharm., XIII, 1881.
(2) Gorz (élève de Boehm) : Dissert^{n}, 1873. Dorpat.
(3) Kobert : Arch f. exp. Path. u. Pharm., XXII, 1887.
(4) F. Franck : Bull. de l'Acad. de méd., Paris 1895, p. 17.
(5) Stephani et Galleriani : Archives ital. de Biol., XII, 1889.
(6) Fraenkel : Arch. f. exp. Path. u. Pharm.. XL. 1897.
(7) Hemmeter : Medical Record, 1891.

fémorale au moyen de la Stromuhr de Ludwig. La rapidité du courant aurait passé de 165 à 98 mm. à la seconde grâce à une dose de digitale qui n'est pas indiquée, pas plus qu'il n'y a d'indications sur le poids de l'animal examiné ou sur le stade de l'intoxication. Le fait est probablement exact, car il découle des autres facteurs, vaso-constriction et lenteur du pouls, surtout quand la tension n'est pas augmentée.

Depuis 1898 on a commencé à appliquer la méthode de Langendorf sur l'isolement du cœur de mammifères pour l'étude des médicaments cardiaques.

Les expériences de Bock (1) sur la circulation cardio-pulmonaire ne contiennent que des expériences sur l'helléboréine.

Hebdom (2) a expérimenté sur le cœur de lapin isolé (méthode de Langendorf), intoxiqué par la digitaline; l'auteur n'emploie pas de doses exagérées, elles ne dépasseraient guère la dose mortelle si elles circulaient toutes entières dans le sang de l'animal. Mais il attribue à la digitale un ralentissement progressif de tous ces cœurs, même après que la solution toxique a cessé de circuler à travers le tissu cardiaque et est remplacée depuis des minutes par le sérum normal. Cette conclusion ne s'impose pas sans contrôle, d'autant plus que nous voyons un des cœurs se ralentir avant toute application digitalique; il y avait donc une cause ralentissante dans la méthode d'irrigation même.

Braun et Mager (3) ont présenté ensuite un grand travail sur ce même sujet, spécialement sur les cœurs de chat. Ils ont employé l'infusé et le macéré de digitale, puis les *digitalinum purum amorphum germanicum Merck*, digitonine et digitoxine de la même firme. Pour juger de la valeur de ces expériences au point de vue de notre étude, il nous faut préciser le mode d'administration du poison. Pour chaque drogue il y a une expérience où l'intoxication est produite en faisant circuler du sang chargé d'une dose déterminée; toutes les autres intoxications sont obtenues en injectant la dose en une fois dans le tube d'irrigation près du cœur. Cette seconde manière d'agir est trop anormale pour être comparée à l'état physiologique.

Examinons les résultats obtenus par la première forme d'administration. Quand ils irriguent, p. 493, par un infusé de 1/4 de gramme de feuille sur 100 de solution physiologique, la 1re irrigation trouble brusquement le cœur; puis une seconde installation de l'irrigation reste sans effet, sauf la diminution de l'irrigation coronaire.

La 1re solution de digitaline, p. 507, comporte 2 mg. par 100 cm³ de

(1) Bock : Arch. f. exper. Path. u. Pharmak.. XL, 1898.
(2) Hebdom : Skandin. Arch. f. Physiol., VIII, 1898.
(3) Braun u. Mager : Sitzungsberichte der kaiserl. Akad. der Wissens. Wien, 1899.

solution de sel marin; en une minute la fréquence a baissé de 19 à 9, l'amplitude a fort diminué (la solution digitalique n'était pas additionnée de sang). Une solution plus que 2 fois plus faible additionnée de sang ne laisse pas voir de changements p. 508.

La solution de digitonine de 1 cgr. sur 100 d'eau physiologique laisse à peine reconnaître un ralentissement dans une première irrigation; mais ce cœur, p. 517, est bien irrégulier, et la seconde irrigation ne permet plus de reconnaître des effets attribuables au médicament. Une solution sanguine contenant pour 100 gr. 0,45 mgr. de digitoxine et 1 mgr. de digitonine, p. 523, influence peu la fréquence, l'amplitude augmente, le ralentissement après plus d'une minute ne dépend peut-être pas du médicament, car malgré l'irrigation au sang normal le ralentissement persiste.

Remarquons que la survie de tous ces cœurs a été très brève (4, 6, 9 et 6 minutes) et a présenté des symptômes progressivement irréguliers : l'auteur n'a point établi la dose toxique, pour tout l'animal, des solutions qu'il a employées et il nous serait difficile de l'entrevoir, car s'il a fait des expériences sur des cœurs de lapin et de chat, ses protocoles ne nous renseignent pas de quel cœur il s'agit dans chaque expérience. Le point le plus important serait pourtant de pouvoir montrer que telle dose thérapeutique pour l'animal ou mortelle-minimale produit des symptômes correspondants sur le cœur isolé.

Les expériences de HEBDOM, de BRAUN et MAGER sont représentées par Gottlieb et Magnus comme n'ayant pas les garanties ni la constance voulues dans leurs résultats. Cette appréciation paraît bien légitime.

Le mémoire de GOTTLIEB et MAGNUS (1) traite *in extenso* de la même question. Il contient des courbes isotoniques et isométriques du cœur isolé irrigué par les solutions pharmacologiques dans le but d'en mesurer le travail effectué. Nous devons faire abstraction des expériences sur la strophantine; et les auteurs ne donnent malheureusement que les résultats d'une seule expérience faite sous l'influence de la digitoxine : la solution irriguante contient 1 mgr. pour 200 gr. de solution, alors que la dose mortelle paraît être 0,5 par kilogr. d'animal; la dose n'est donc pas exagérée. Après quelques minutes l'influence sur le cœur se manifeste par une augmentation de l'excursion du cœur pendant une notable augmentation de la fréquence des battements, mais le chiffre donné pour la digitoxine n'est que peu probant, l'excursion passe de 5 mm. à 6 millimètres seulement.

Nous verrons jusqu'à quel point les expériences de ce genre peuvent se comparer à ce qui se passe chez l'animal intoxiqué. Nos observations auront précisément comme résultat d'en réduire extrêmement la valeur.

---

(1) GOTTLIEB u. MAGNUS : Arch. f. exp. Path. u. Pharm., XLVII, 1901.

Les expériences de notre compatriote L. PLUMIER (1) sur le cœur isolé sont aussi faites en injectant en une fois la dose dans le tube qui amène la solution de LOCKE au cœur. Nous devons leur appliquer la réserve que nous exprimions page 129 concernant le même genre d'expériences de BRAUN et MAGER.

Rappelons ici la constatation de Hebdom, Braun et Mager, Magnus et Loeb sur les vaisseaux coronaires : la digitoxine, aux doses non mortelles injectées directement par la circulation de Langendorf, rétrécit notablement le calibre des vaisseaux du cœur; LOEB (2) donne un graphique détaillé qui montre que le débit du sang a la moitié de sa valeur normale; mais il ne renseigne pas la dose qu'a reçu l'animal en expérience. Il est intéressant de remarquer ici que la strophantine n'a pas d'effet vaso-constricteur sur la circulation propre du cœur.

Le cœur au moment de la mort des animaux empoisonnés par la digitale a déjà été observé par ORFILA (3) qui le déclare contracté et inexcitable. STANNIUS (4) dit que le cœur des carnivores est inexcitable, tandis que le cœur de lapin est encore excitable pendant quelque temps, mais cette conclusion ne ressort pas de ses expériences, et celui qui relit actuellement le travail de Stannius ne saurait souscrire à une aussi large conclusion.

Ces résultats d'ailleurs concernant le lapin ont été contredits par KOPPE (5), qui a trouvé les cœurs de mammifères inexcitables complètement et il en conclut spécialement pour le lapin que la digitale est un poison musculaire. HEUBEL (6) est parvenu par de longues irrigations à rendre la vie au cœur de grenouille immobilisé par la digitale.

Braun et Mager affirment que le cœur isolé de lapin ou de chat, arrêté par la digitale, ne put jamais être ranimé.

La vaso-constriction.

Nous n'avons pas l'intention de refaire la longue histoire de l'étude de la vaso-constriction. Depuis que Ludwig apprit à ses élèves à faire les irrigations artificielles à travers les organes, et que Heger et Mosso eurent poussé la méthode à une grande perfection, l'étude de la vaso-constriction s'imposait.

Elle fut des plus difficiles. GOTTLIEB et MAGNUS (7) font l'historique

(1) L. PLUMIER : Journal de phys. et de path., 1905.
(2) LOEB : Arch. . exp. Path. u. Pharm., LI, 1903.
(3) ORFILA : Toxicologie, 1818.
(4) STANNIUS : Arch. f. physiol. Heilkunde, 1851.
(5) KOPPE : Arch. f. exper. Path. u. Pharm., III, 1873.
(6) HEUBEL : Pflügers Arch., VL, 1889.
(7) GOTTLIEB u. MAGNUS : Arch. f. exp. Path. u. Pharm., XLVII, 1901.

spécial de cette question et montrent toutes les hésitations des débuts et l'insuffisance convaincante de beaucoup de résultats.

La constatation *de visu* (Galan, Fothergill, Legroux, Gourvat, Klug, Ackermann, Gaskell) ne suffit pas aux critiques scientifiques. C'est peut-être bien à tort; on leur oppose d'ailleurs facilement les doutes de Boehm et de Koppe quoique ces auteurs fussent dans des circonstances spéciales.

L'argument tiré de la *hausse* de la tension sanguine malgré la lenteur du pouls ne parvient pas mieux à établir les convictions; et il en est de même de la courbe du cardiogramme (L. Brunton et Tunicliffe, Frœnkel, Cushny).

Les expériences directes par mensuration de volume des organes, oncographie, ne sont pas encore convaincantes. Il faut pouvoir mesurer l'écoulement du sang qui pénètre par l'artère ou qui s'écoule par les veines.

Et malheureusement presque toutes les observations sur la vaso-constriction ont été faites avec des poisons comme l'helléboréine, strophantine, convallamarine. Si nous recherchons ce qui a été réellement observé au moyen de la digitale, il nous reste bien peu de chose. En outre, dans beaucoup d'expériences les expérimentateurs ont employé des doses si massives, que pour l'application médicale leurs résultats perdent presque toute valeur.

Les expériences de Talma et v. der Weyde portent sur la grenouille et le lapin et sur tous les vaisseaux à la fois, en effet l'irrigation artificielle se faisait dans le bout périphérique de l'aorte et les auteurs mesurent la rapidité de pénétration du liquide irriguant. Doses : 2 mgr. de digitaline par grenouille en injection intra-vasculaire; 10 mgr. minimum pour des lapins moyens ou grands. Les doses nous paraissent énormes, à moins que la digitaline employée ait été très faible.

Parmi les 4 expériences de Magnus-Gottlieb (1) il y en a 1 où la dose n'est pas exagérée et qui donne une diminution sensible du volume de la patte et du rein. Puis, ajoutent les auteurs, p. 152, au cours de la même expérience, une nouvelle hausse de la tension (non marquée dans la figure) survint; la patte augmenta alors de volume, par exception, tandis que le rein continuait de se rétracter.

Loeb (2) montra après Hebdom et Braun et Mager que l'artère coronaire se contracte aussi sous l'influence de la digitoxine (dose non indiquée) tandis que la strophantine n'a pas cet effet.

---

(1) Gottlieb u. Magnus : Ib., XLVII, 1901.

(2) Loeb : Arch. f. exp. Path., LI, 1903.

Enfin MAGNUS et GOTTLIEB (1) prouvent la même vaso-constriction des vaisseaux cérébraux par une expérience à la digitoxine sur le chien (morphinisé, curarisé et atropinisé); mais la dose employée a tué l'animal en 1 minute d'après le graphique de la page 268.

Enfin d'après L. PLUMIER (2), la digitoxine élève, *in vivo*, la pression pulmonaire.

Si nous n'avions pas beaucoup de raisons pour admettre la vaso-constriction, nous devrions la considérer comme insuffisamment prouvée du moins aux doses thérapeutiques pour la digitale.

La meilleure preuve nous semble résider dans le phénomène déjà reconnu par Traube pour le chien : hausse de la tension sanguine, malgré un ralentissement énorme du cœur. Mais ce fait ne prouve que la vaso-constriction du domaine splanchnique, et ne détermine pas la cause centrale ou périphérique, nerveuse ou musculaire de cette vaso-contraction.

Action sur les deux cœurs.

La différence d'action sur le ventricule droit et gauche a fait l'objet de controverses, dans lesquelles sont intervenus Openchowsky, de Kiew, notre compatriote Bayet, sous la direction d'Héger, F. Franck, Cushny. La plupart des expériences d'Openchowsky et de Cushny ne sont pas faites avec la digitaline. Il est admis au moins que la tension aortique du chien monte notablement, tandis que la tension pulmonaire reste invariée (BAYET (3), FRANCK (4)) ou monte faiblement (L. PLUMIER (5)). La survie anormale du cœur gauche après le cœur droit paraît aussi devoir être accepté pour la digitale : OPENCHOWSKY (6) et HÉGER (7).

Nous ne devons pas nous étendre sur ce sujet, qui ne touche que de loin à nos expériences.

Action sur la respiration.

Elle est assez mal connue, dit STOKVIS, et piètrement décrite, *al buitengewoon stiefmoederlijk behandeld !* Pourtant plusieurs auteurs s'en occupent. GOURVAT (8), dans sa monographie de la digitale, lui consacre

(1) MAGNUS et GOTTLIEB : Ib., XLVIII, 1902.
(2) PLUMIER : Journal de physiol. et de path., 1905.
(3) BAYET : Journal de Médecine, Chir. et Pharm. Bruxelles, 1891.
(4) F. FRANCK : Bulletin de l'Acad. de Méd. de Paris, 1895.
(5) L. PLUMIER : Journal de Physiol., 1905.
(6) OPENCHOWSKI : Zeitschr. f. klin. Med., 1889.
(7) HÉGER : Bull. de l'Acad. de Méd. de Belgique, 1892
(8) GOURVAT : Gazette médicale de Paris, 1871.

quelques lignes : la faible dose, dit-il, ralentit la respiration et en augmente le volume : la haute dose l'accélère ; mais il croit ces phénomènes secondaires aux troubles circulatoires ; KOPPE (1) insiste beaucoup sur les dyspnées terribles des mammifères et décrit l'asphyxie finale du lapin. ZERNER (2) mesure la respiration chez des chiens digitaliques ; l'effet utile augmente mais non en proportion des efforts faits.

F. FRANCK (3) parle très dédaigneusement de ces expériences de l'auteur Viennois et nie toute action de la digitale sur la respiration !

On ne peut s'empêcher de considérer les critiques de certains auteurs comme trop autoritaires. Comme nous le verrons, la respiration est réellement très influencée par la digitale ; mais en clinique l'attention n'est éveillée que par les allures exceptionnelles.

Les descriptions de Koppe méritent le plus d'attention au point de vue respiratoire ; elles datent de 1875 ; et on voit combien peu elles sont relevées dans la doctrine médicale.

Action sur les muscles de relation.

C'est encore une influence qui mérite l'attention. STANNIUS (4) avait vu les cœurs de grenouilles arrêtés avant que l'animal ne soit paralysé ; la R. temporaria saute et fuit quand déjà le ventricule ne bat plus. Notons qu'on peut lier le ventricule cardiaque à sa base de manière à interrompre le cours sanguin sans que la grenouille meure avant de longues heures.

VULPIAN (5) constate les mêmes faits sur un premier groupe de grenouilles amaigries et captives depuis longtemps ; puis sur un nouveau lot de grenouilles vives et fraichement capturées, la musculature périphérique se paralyse avant le cœur.

Beaucoup d'auteurs ultérieurs ont trop fait abstraction des parésies musculaires, et semblent oublier que même chez les batraciens, la Rana temporaria présente seul un cœur aussi électif. La délimitation du groupe digitalique de Schmiedeberg se base sur cette sensibilité du cœur de la grenouille verte, et dans leurs exposés succincts beaucoup de vulgarisateurs de la doctrine Strasbourgeoise (Fraser, Brunton, Kobert) passent sous silence la part notable que la musculature des batraciens prend à la parésie.

GOURVAT (6) a parfaitement montré que les hautes doses, après avoir

(1) KOPPE : Arch. für exper. Path. u. Pharm., III, 1874.
(2) ZERNER : Wiener klin. Wochenschrift, 1891.
(3) F. FRANCK : Bull. de l'Ac. de Méd. 1895.
(4) STANNIUS : Arch. fur phys. Heilkunde, 1851.
(5) VULPIAN : C. R. et Mém. de la Soc. de Biologie, 1855, s. 2, t. 2.
(6) GOURVAT : Gaz. médicale, 1871.

arrêté le cœur de grenouille, paralysent aussi les muscles sans qu'on puisse objecter que la cessation de la circulation soit en cause.

KOPPE (7) insiste aussi sur la paralysie générale avec disparition de l'excitabilité musculaire chez la grenouille, à dose élevée (10 fois la dose qui arrête le cœur). Chez le lapin il constate à dose mortelle une paralysie musculaire intense avec ***diminution*** de l'excitabilité (l'excitation du N. sciatique donne des secousses faibles); les muscles de la gueule (oreilles, paupières, mastication) font exception et restent à la libre disposition du cerveau pour marquer l'anxiété ou la douleur perçue. Koppe n'est pas loin d'attribuer la mort à l'asphyxie paralytique, mais il admet que le cœur meurt en même temps.

Il remarque que les convulsions finales (qu'il considère comme des convulsions d'asphyxie) chez le chat et le chien sont peu énergiques.

Dans l'intéressant tableau de sa propre intoxication au moyen de 2 mgr. de digitaline, il constate entre autres symptômes qu'il ne parvenait pas à se tenir sur ses jambes, ses genoux fléchissant toujours sous son poids.

Le système nerveux central.

D'après Koppe l'animal intoxiqué (grenouille, chien, lapin) conserve apparemment l'usage de ses sens, et manifeste jusqu'à la fin ses peurs et douleurs.

Dans son intoxication personnelle, Koppe ne perdit guère notion de ce qui se passait autour de lui, mais il ressentait de la xanthopsie; la vue était troublée au point que le malade ne reconnaissait ses visiteurs qu'à leur voix. Pourtant pendant quelques heures il fut incapable d'observer ses symptômes lui-même, en ayant perdu la force et l'intérêt.

Dans les intoxications mortelles on a vu des délires et des hallucinations.

Mais il y a un autre centre supérieur très important dont l'influence dans l'intoxication digitalique a été bien étudiée par WEIL (1), élève de Dubois-Reymond. Il s'agissait pour l'auteur de prouver encore l'existence de ce centre médullaire qui inhibe les réflexes périphériques, centre qui se trouve chez la grenouille dans la moelle allongée. Le réflexe périphérique étudié par Weil est constitué par le retrait de la patte postérieure quand on la met en contact avec une solution légère de $H^2 SO^4$.

Or il se fit que la digitaline augmente précisément d'une façon assez élective l'irritabilité du centre inhibitif en question. Le réflexe normal étant déterminé chez une grenouille, on constate que l'intoxication

(4) KOPPE : Arch. f. exp. Path., 1873.
(1) WEIL : Arch. fur Anat. Physiol. u. Medicin, 1871.

digitalique *retarde* énormément le réflexe, et dès qu'on sectionne la moelle allongée, ce retard disparait très nettement.

Ces expériences sont faites avec toutes les précautions désirables et ne prêtent pas à une autre interprétation que celle de l'hyperesthésie du centre inhibitif de la moelle allongée. La dose nécessaire pour mettre cette hyperesthésie en jeu ne doit pas même arrêter le cœur, loin de là, elle apparait parfois avant que le cœur soit même ralenti.

Cette belle étude a été peu remarquée. Schmiedeberg lui consacra quelques lignes pour y objecter que le cœur avant d'être ralenti est déjà affaibli peut-être et que la mauvaise circulation du sang à travers le centre en question peut expliquer l'hyperesthésie constatée : objection très spécieuse, peu en accord avec les théories de Schmiedeberg lui-même, qui admet au début de l'influence digitalique un renforcement de l'action cardiaque.

D'après Weil donc ce centre serait encore plus sensible que le cœur, et il serait le premier à montrer sa lésion : ce fait nous parait très intéressant.

Autres symptômes et faits isolés.

Les cœurs lymphatiques de la grenouille ne sont pas influencés visiblement (Gourvat). (1)

Les fonctions génitales sont déprimées chez l'homme par les cures digitaliques (Gourvat).

Le foie ne retient pas la digitaline comme il retient d'autres alcaloïdes (Roger (2)). La digitale n'apparait que tardivement dans les urines et en petite quantité. (3).

L'action irritante locale des digitalines ne fait pas de doute et les injections sous-cutanées ont souvent provoqué des phlegmons.

L'action antipyrétique a été généralement admise en clinique; aujourd'hui on n'y compte guère plus. La digitale provoque une légère leucocytose. (4)

La digestion pepsinique affaiblit la digitale. (5)

Bien d'autres questions se présentent dans l'historique de la digitale, mais elles sont pour nous d'un intérêt secondaire : telle la question si controversée des différents glucosides de la digitale; celle de l'altérabilité et de la variation des préparations pharmaceutiques; celle de sensibilité si inégale des animaux d'espèce différente; celle de la recherche toxicologique de la digitale, et d'autres encore.

---

(1) Gourvat : l. c. p. 572 et 584.
(2) Roger : C. R. de la Soc. de Biol., 1889.
(3) Cloetta et Fischer : Arch. f. exper. Path. u. Pharm, 54, 1906.
(4) Herzig : Arch. fur exper. Pathol., 53, 1905.
(5) Deucher : Deutsches Archiv fur klin. Med., 58, 1896.

Ce serait plutôt le lieu ici de résumer les théories ou hypothèses qui ont été prônées pour interpréter l'action curative. Certes ces théories ont de l'importance, puisqu'elles dirigent les médecins dans les cas douteux et difficiles. Nous préférons nous abstenir d'une pareille enquête, qui ne révèle d'ordinaire que l'histoire des erreurs et des contradictions de l'esprit humain; plus que pour toute autre drogue, l'histoire des interprétations données est triste et compromet de beaux noms de la science moderne. C'est une des raisons pour laquelle nous ne nous y étendons pas ici.

Depuis Traube les théories prédominantes ont varié avec chaque objet d'étude; le jeu des nerfs vagues à peine découvert a été mis en cause; le cœur de grenouille isolé en a imposé ensuite; les vaso-constricteurs ont concentré toute l'attention sur eux jusque tout récemment; enfin actuellement nous sommes sous l'influence des expériences captivantes faites sur le cœur isolé de mammifère.

Aussi, disons le en un mot, les plus actifs pharmacodynamistes contemporains, tout en étant très prudents dans leurs interprétations, ne peuvent s'empêcher de considérer la digitale comme un médicament cardiaque, c'est-à-dire un médicament dont l'effet utile prédominant dépend d'une influence directe sur le cœur. Il nous serait facile de prouver cette tendance par une série de textes des plus récents et des auteurs les plus réputés.

Aujourd'hui heureusement on attache de moins en moins d'importance aux théories; les démonstrations ont seules de la valeur; et nous devons nous mêmes nous abstenir autant que possible d'attaquer les simples hypothèses ou d'en chercher de nouvelles. Quand nous aurons exposé clairement les faits nouveaux observés, notre rôle sera fini; tout esprit humain en tirera les conséquences certaines et laissera à d'autres expérimentateurs le soin d'élucider les points laissés dans l'ombre.

Plan du travail.

Au début de nos recherches notre intention était de provoquer les premiers phénomènes dus à la digitale, et de constater ainsi les effets des doses thérapeutiques. Aussi, nos premières injections furent de 1/4 mgr. 1/2, 1 mgr. de digitaline pour des lapins de 2000 grammes environ. Ces injections étaient répétées parfois pendant huit jours consécutifs. Nous prenions comme guide l'allure du pouls et de la respiration : aucune modification n'apparut de ce côté.

Alors nous examinions ces animaux de plus près, au moyen de la vivisection classique. Avec ou sans l'aide du curare, nous examinions

l'allure de la tension carotidienne au cours de différentes interventions : section des nerfs vagues, excitation des mêmes nerfs, excitation du nerf sciatique, compression de l'aorte à différentes hauteurs, action de l'atropine, influence de l'asphyxie, influence des souffles brusques sur la peau du ventre de l'animal curarisé (réflexe vaso-constricteur violent), isolement du cœur par la méthode de Langendorf. Mais il ne nous fut pas possible de saisir la moindre influence de la cure digitalique, au milieu de ces circonstances variées. L'animal se comportait toujours comme s'il n'avait pas reçu d'injection de digitaline.

Force nous fut d'augmenter les doses pour avoir les premiers phénomènes reconnaissables et après bien des tâtonnements et l'usage de solutions variées de digitalines nous sommes ainsi arrivés à recourir aux doses minimales toujours mortelles. La moitié de cette dose n'était jamais mortelle.

Cette dose toujours mortelle nous a placé devant le tableau de l'intoxication digitalique déjà vu et décrit par Koppe, Traube etc.

C'est alors que tout notre intérêt s'est porté vers le cœur lui-même. Au milieu de tous ces phénomènes morbides il était, en effet, intéressant de savoir ce que fait le cœur : dans quelle mesure le cœur participe-t-il à l'intoxication digitalique, comment, de quelle façon est-il atteint? Nous eûmes d'abord recours à la circulation artificielle de Langendorf. Grâce à l'isolement du cœur nous pouvions en effet constater de visu ce qu'il valait encore en pleine intoxication.

Au début de ces expériences nous croyions devoir extirper le cœur de nos animaux à la période d'agonie et le mettre rapidement sur la circulation artificielle. Dans la suite nous laissâmes mourir nos animaux et alors seulement nous mettions le cœur sur la circulation artificielle. Enfin, ultérieurement nous ne nous préoccupâmes même plus d'opérer rapidement. Le cœur était parfois retiré du thorax du lapin, une demi heure après la mort, ce qui ne l'empêchait pas de se mettre à battre admirablement dès qu'il était irrigué par le sang artificiel.

D'une façon absolument constante les cœurs reprenaient vie et battaient bien. Et ce n'est pas seulement le cœur du lapin qui peut se comporter de la sorte après l'intoxication digitalique; mais nous avons répété les expériences avec le cœur du cobaye, du rat et du pigeon.

Si le cœur est indemne, de quoi meurt l'animal? Nous voulûmes alors approfondir cette question par l'étude de l'animal malade ayant reçu une dose mortelle en une heure environ. Nous étions dès lors engagé en plein dans la question du mécanisme de l'intoxication par la digitale. Cette étude formera une partie importante de notre travail. Nous sommes heureusement parvenu à voir d'une façon plus claire la cause des principaux symptômes de l'intoxication digitalique.

D'autre part, une question qui a passiouné bien des expérimentateurs est celle de savoir ce que devient la digitaline dans l'organisme. Nous avons aussi fait à ce sujet quelques expériences originales qui ne seront pas sans intérêt pour notre sujet.

Préliminaires.

1. — Choix de l'animal.

Il nous a semblé qu'il était hautement désirable, quand on veut étudier un poison et spécialemant un poison nerveux, d'éviter toute intervention de poison étranger. En choisissant le lapin nous pouvions nous passer du curare nécessaire dans les vivisections du chien et du chat. Et, disons-le dès maintenant, bien nous en prit. Nous avons, en effet, été frappé de l'analogie qui existe entre le curare et la digitaline : entre autre, la paralysie musculaire qui, en opérant sur des animaux curarisés, eut échappé à notre observation. De plus l'excitabilité exagérée de la moelle, déjà intoxiquée par le curare, n'est pas faite pour rendre facile l'étude d'un second poison comme la digitaline. Au contraire, elle ne saurait faire qu'embrouiller l'examen de l'intoxication.

Il est encore une raison qui nous fit prendre le lapin comme base de notre étude. Nous voulions examiner la respiration. Nous verrons qu'elle joue dans l'intoxication digitalique un rôle extrêmement important, d'oû nécessité de la conserver naturelle, spontanée.

Une troisième raison qui nous fit choisir le lapin comme principal sujet d'expérimentation est la survie facile et constante de son cœur qui paraît avoir plus d'autonomie que celui des autres animaux.

Nous avons aussi, mais seulement pour servir de complément, expérimenté le cobaye, le rat blanc, le pigeon et même la grenouille.

FRÄNKEL (1) dans son étude sur la digitale, ne veut pas employer le lapin. Il donne comme raison la labilité du cœur de lapin. Oui, il s'agit de lapins vieux, malades, déjà intoxiqués. Le cœur est alors peu résistant et l'animal meurt contre toute attente après avoir eu pendant tout le cours de l'expérience une tension sanguine anormalement basse. Nous en fîmes l'expérience sur cinq lapins.

Quatre avaient été, malgré nous, nombre de fois intoxiqués avec des toxines diphtériques et pneumococciques. Mais ils paraissaient complètement remis. Aucun de ces quatre ne nous a donné les phénomènes typiques de l'intoxication digitalique; la mort rapide et brusque de l'animal survenait avant leur apparation.

---

(1) Arch. f. experiment. Path. und Pharm., XL, page 40.

Le cinquième était un vieux lapin pesant 5 kilog., très gras, ayant vécu toute son existence dans sa petite garenne, mais sans avoir jamais été le sujet d'expériences. Pendant la vivisection, nous fûmes surpris de constater que son artère carotide n'était pas plus grosse que celle d'un jeune et vigoureux lapin de 1,5 kilog. Il est mort très rapidement avant même d'avoir reçu la dose de digitale nécessaire à l'intoxication.

Pour tous les autres lapins jeunes de deux à trois kilog. encore en croissance, les phénomènes de l'intoxication digitalique apparaissent régulièrement. de façon absolument identique et nous n'avons à noter aucun échec.

2. — Choix de la digitale.

Pour étudier les phénomènes de l'intoxication nous ne nous servîmes pas seulement de digitaline mais nous prîmes aussi très souvent l'infusé de poudre de feuille de digitale. En réalité c'est encore lui qu'on emploie le plus volontiers en clinique.

Il offre certains désavantages que nous avons pu vérifier et qui ont été signalés par différents expérimentateurs. Le principal est son inconstance. De quoi dépend-elle ?

En premier lieu, elle dépend de la poudre : Il est prouvé, en effet, que des poudres différentes peuvent avoir une force active variant de 1 à 4. Pour nous mettre à l'abri de cet inconvénient, nous avons employé dans toutes nos expériences, la même poudre de feuille achetée en gros.

Une autre cause d'erreur réside dans la façon de préparer l'infusé. Les températures différentes donnent, pour une même poudre, des forces différentes. Il en est de même du temps de contact de la poudre avec l'eau.

Afin de pouvoir faire des dosages certains, tous les infusés furent faits par nous de la même façon. Nous les fîmes toujours au moyen de la solution de Locke. Nous avons adopté cette règle de façon à pouvoir injecter directement dans le sang de l'animal notre infusé isotonique avec le sang, vérifié par la cryoscopie. Quant à la température, nous avons, pour plus de facilité, adopté cette façon d'agir : la solution de Locke est portée à l'ébullition. A ce moment nous fermons le gaz et aussitôt nous jetons la poudre dans l'eau. Nous laissons la poudre en contact, en l'agitant de temps en temps, pendant 20 minutes. Le tout est filtré en exprimant la poudre et nous ramenons la solution à son volume primitif. Puis nous faisons une seconde filtration.

De cette façon, les infusés frais diffèrent peu en activité,

Nous nous servîmes aussi de digitaline de Nativelle qui nous fut fournie en grande quantité. Mais ici nous avons rencontré toute une série de difficultés. Nous les décrirons plus loin dans le chapitre traitant de la recherche des doses.

PREMIÈRE PARTIE. — RECHERCHE DES DOSES CHEZ LE LAPIN.

A. *Digitaline de Nativelle.* — Nous suivrons dans cet exposé l'ordre dans lequel nos recherches furent faites. Nous verrons ainsi les causes qui font varier les doses pour le même produit, non seulement d'après la voie d'introduction, mais aussi d'après le dissolvant.

1/ Au début de nos recherches nous nous servîmes de granules au quart de milligramme de digitaline que nous faisions dissoudre à chaud dans l'eau légèrement alcoolisée. La dissolution n'était pas toujours parfaite, mais une plus forte quantité d'alcool la rendait alors possible. Nous injections sous la peau les différentes doses.

Voici une série de lapins ainsi injectés :

Poids.	Doses par kilogr.	Résultats.
1000 gr.	0,5 milligr.	Pas de symptômes.
1000 »	1 »	Idem.
1000 »	4 »	Idem.
900 »	8 »	Mort en 2 heures.
900 »	8 »	Très malade, prostration, survie.
800 »	8 »	Très malade, survie.
750 »	10 »	Pas de symptômes.
1100 »	10 »	Pas de symptômes.

Nous avons donc obtenu ce résultat bizarre : mort avec 8 milligr. et aucun symptôme avec 10 milligr. La résorption du poison était inconstante. D'ailleurs la suite le démontrera encore mieux.

Un fait restait acquis : une dose de 8 milligrammes peut tuer.

2/ Nous devions donc chercher une solution plus résorbable. La firme Nativelle nous a livré une solution au centième dans un mélange d'eau, de glycérine et d'alcool.

Voici une série de lapins injectés sous la peau avec cette solution au centième :

Poids.	Doses par kilogr.	Résultats.
1000 gr.	15 milligr.	Survie
725 »	17 »	Très malade, survie.
800 »	22 »	Mort.
800 »	25 »	Survie.
1000 »	30 »	Mort.
1100 »	30 »	Mort.

Grand fut notre étonnement de constater que de fortes doses de 15, 17 et 25 mgr. ne tuaient plus, alors que 8 mgr. avaient tué auparavant.

Nous voulûmes alors faire nous même une solution dans un liquide composé de glycérine, eau et alcool, ana. Mais la digitaline ne s'est pas dissoute dans ce liquide et nous dûmes, pour avoir une dissolution parfaite, ajouter de l'alcool à 94° jusqu'à faire de notre liquide une solution à 0,5 %.

Nous injectâmes avec cela une autre série de lapins :

Poids.	Doses par kilog.	Résultats.
900 gr.	20 milligr.	Pas de symptômes.
700 »	20 »	idem.
650 »	20 »	idem.
575 »	20 »	idem.
900 »	30 »	idem.
1000 »	35 »	idem.

Une pareille inactivité pour d'aussi fortes doses nous fit rechercher la cause de cette non résorbtion de la digitaline. Nous avons alors remarqué qu'au lieu de se résorber, notre injection s'enkystait sous la peau. Chez tous les lapins de cette série nous avons retrouvé le kyste.

La glycérine fut soupçonnée de le produire et nous essayâmes alors une solution de digitaline dans l'alcool à 94°. Nous la fîmes à 2,5 % pour pouvoir n'injecter qu'une petite quantité.

Poids.	Doses par kilo.	Résultat.
1000	25 milligr.	Mort en 1 heure.
2350	21 »	Mort rapide.
1000	15 »	Aucun symptôme.
	au même 10 h. après le 1r, 15 m.	Mort.
1875	14 »	Très malade, mort en 4 heures.
950	13,5 »	Mort en une heure.
850	12 »	Mort en une heure.
1650	11 »	Mort après 4 heures.
1850	9,50 »	Très malade, mort après 3 jours.
1150	7 »	Aucun symptôme.
	la dose fut répétée 7 fois à intervalle de 24 heures.	Mort.
950	7 milligr. répétée 3 fois à 24 h. d'intervalle.	Mort.
900	7 » répété 5 fois à 24 h. d'intervalle.	Mort.
775	7 » répétée 3 fois à 24 h. d'intervalle.	Mort.
1350	6 » répétée 5 fois à 24 h. d'intervalle.	Mort.
1200	6 » répétée 3 fois à 24 h. d'intervalle.	Employé pr mégarde pr une autre expér. au NH_4Cl et est mort.
1500	4 » répétée 10 fois à 24 h. d'intervalle.	Employé par mégarde.

Ce tableau offre plus de régularité que le précédent dans l'effet produit par les doses croissantes. Dans nos expériences ultérieures nous avons employé au lieu d'une solution à 2,5 %, une solution à 2 % et parfois à 1 % et les effets voulus étaient régulièrement donnés par les mêmes doses. Nous avons de la sorte trouvé comme dose toujours mortelle en 1 h. à 2 h. : 12 mgr. par kilog., tandis que la dose de 6 mlg. par kilo n'était jamais mortelle.

Entretemps nous nous étions mis à faire des expériences au moyen de l'infusé de digitale afin d'établir une comparaison entre les doses d'infusé et celles de la digitaline et nous injections notre infusé par la voie intraveineuse. Nous commençames à injecter aussi la digitaline par cette voie. Vu sa grande insolubilité dans l'eau ce n'était pas chose facile. Après bien des essais nous avons remarqué que la digitaline est relativement soluble dans le serum sanguin. Nous fîmes alors des solutions au millième ou au demi-millième dans du serum de cheval que nous injections, soit dans la veine jugulaire, soit dans la veine marginale. Nous avons alors obtenu des résultats absolument constants.

Voici une série de lapins que nous avons injectés de la sorte.

Poids.	Dose par kllog. en injection intraveineuse.	Résultats.
1050 gr.	6 milligr.	Mort après 20'.
1900 »	3 »	Mort après 40'.
1400 »	2 »	Mort après 1 h. 45'. Nous lui avons sectionné les nerfs X. Il servit à une expérience.
2650 »	1,5 »	Mort après deux heures.
1300 »	1,5 »	Mort après 18 heures.
850 »	1 »	Prostration, grande parésie; 12 heures après il est guéri.
800 »	0,5 »	Après une heure prostration, guérison.

Voilà donc que par cette façon d'injecter dans la veine la digitaline en solution dans du sérum de cheval nous réduisons la dose mortelle précédemment trouvée par l'injection hypodermique de 12 milligrammes à 2 milligrammes.

Nous nous sommes alors demandé ce que ferait l'injection sous-cutanée de digitaline à 1 °/oo dans du serum de cheval.

Voici des expériences à ce sujet :

Poids.	Injection sous-cutanée par kilogr.	Résultats.
825 gr.	3 milligr.	Mort en 35 min.
900 »	2 »	Pouls avant l'injection, 300 par min. 4 heures plus tard : le lapin est malade, il se tient à peine sur ses pattes, la tête est inclinée à terre; pouls 240. 24 heures après l'injection : il paraît rétabli; pouls 260. 48 » » » : pouls 300.
1500 »	1 »	Il devient malade après 2 heures : parésie considérable. Il parait guéri après 14 heures.

Comme l'indique le tableau, l'injection sous-cutanée dans le serum de cheval est très active mais moins pourtant que l'injection intraveineuse.

C'est donc le serum qui constitue le meilleur véhicule de la digitaline.

B. *Infusé de poudre de feuille.* — Dans les toutes premières expériences faites avec la poudre de feuille, nous avons employé de l'infusé à 1 °/oo. Nous reconnûmes bientôt que cet infusé était trop faible et que nous

devions injecter à l'animal une trop grande quantité de liquide. C'est alors que nous adoptâmes l'infusé à 4 °/o comme étant une bonne moyenne. Nous l'avons toujours employé dans la suite.

Nos expériences nous ont montré que la dose de 10 cm^3 d'infusé à 4°/o est la dose toujours mortelle en 1 heure environ. La moitié de cette dose, c-à-d. 5 cm^3 ne tue jamais.

C. *Digalen ou Digitoxine soluble Cloetta.* — Nous avons recherché la dose mortelle non pas dans le but d'étudier l'intoxication par ce produit, mais bien pour pouvoir comparer les doses trouvées ici avec celles de l'infusé et de la Digitaline.

Expériences :

Poids.	Injection par kilo.	Résultat.
1800	2 c.c.	Aucun phénomène.
1150	4,5 c.c.	» »
1000	5 c.c.	Paraît plus calme.
1050	6 c.c.	Est manifestement malade. Quelques heures après le pouls est ralenti.
1625	6 c.c.	Idem.
1050	8 c.c.	Mort.
2050	10 c.c.	Mort.

La dose de 8 c.c. par kilogr. de Digalen peut être considérée comme la forte dose toujours mortelle en injection intraveineuse. Or, 1 c.c. de Digalen équivaut à 0,3 milligr. de Digitoxine soluble Cloetta. Donc 2,5 mgr. par kilogr. serait la dose mortelle. A ce point de vue, le digalen se comporterait comme une vraie solution de digitaline.

D. *Digitoxine de Merck.* — A la période où nous faisions la recherche des doses de la Digitaline de Nativelle en injection sous-cutanée dans l'alcool, nous avons aussi cherché la dose de Digitoxine de Merck en solution alcoolique injectée sous la peau.

Voici une série de quelques lapins ainsi injectés :

Poids.	Injection par kilogr.	Résultat.
1000	10 milligr.	Survie.
1400	10 milligr.	Mort.
1100	10 milligr.	Mort.
1800	11 milligr.	Malade; survie.
1250	25 milligr.	Mort.
1450	25 milligr.	Mort.

On remarquera dans ce tableau l'inconstance des mêmes doses. Nous avons aussi trouvé cela avec les injections alcooliques de Digitaline de Nativelle.

Comme nous avions les doses en injection intraveineuse de la Digitaline de Nativelle, nous avons aussi cherché celles de la Digitoxine de Merck. Nous sommes arrivés à ce résultat :

1 mgr. par kilogr., dissous dans du sérum de cheval, tue le lapin en une demi heure.

0,5 mgr. par kilogr. dans du sérum de cheval rend le lapin extrêmement malade pendant 2 ou 3 heures, puis il guérit. A ce point de vue la digitoxine serait un peu plus forte que la digitaline de Nativelle.

E. *Tableau comparatif des doses toujours mortelles chez le lapin en injection intraveineuse et calculées par kilogramme de lapin.*

Infusé à 4 o/o.	Digitaline de Nativelle dans serum de cheval.	Digalen comme tel.	Digitoxine de Merck dans sérum de cheval.
10 c.c. soit 0,40 gr. de poudre	2 mgr.	8 c.c. soit 2,5 mgr.	1 mgr.

La moitié de ces doses d'infusé, de digitaline de Nativelle, de digalen et de digitoxine de Merck ne tue pas.

Seconde Partie. — Phénomènes de l'intoxication digitalique.

1° Symptômes cliniques des différentes doses.

Nous commençons par décrire les phénomènes apparents, sans vivisection, qui surviennent après les doses progressives de digitale chez

le lapin. Cette description a été faite plusieurs fois surtout par les anciens observateurs, et spécialement KOPPE nous semble avoir reproduit clairement ce qui se passe. Cette introduction servira à mieux préciser dans l'esprit du lecteur les points à étudier ultérieurement.

Comme nous allons observer ici l'allure du pouls et de la respiration, disons un mot concernant la régularité de ces fonctions chez le lapin. Voici d'abord un tableau obtenu par l'observation d'un animal sain, pesant 1150 gr., en observation à divers moments pendant 6 jours.

	Pouls par minute.	Respiration par minute.
1r jour à 2 heures. . . .	280—288—296	78
2d jour à 2 heures. . . .	232	64
3e jour à 12 h. 1/2 . . .	288	96
4e jour à 12 h. 1/2 . . .	262	72
Idem à 2 h. 1/2. . . .	280—288	72—76
Idem à 8 h. heures soir .	288—292	108—96
5e jour à 2 heures. . . .	272—280	68 - 72
Idem à 7 heures soir . .	296—304	88—92
6e jour à 6 heures soir . .	288—296	88

Comme on le voit le pouls du lapin est assez régulier; il est incomparablement moins capricieux que celui du chien. La respiration est plus variable, mais ce sont surtout les moments d'excitation qui en troublent brusquement l'allure et précipitent impétueusement les mouvements respiratoires. Toutefois ces moments d'anomalie passent en quelques secondes, et l'animal laissé au repos reprend bien vite sa respiration typique presque invariée.

Quand le lapin est intoxiqué par les produits digitaliques (comme d'ailleurs par beaucoup d'autres médicaments, voir FONTEYNE (1)), la respiration devient très régulière et il est facile de lui reconnaître un chiffre exact par minute, à 4 ou 5 respirations près : les moments d'excitation deviennent aussi de plus en plus rares. Çà et là on trouve un animal qui présente une allure anormalement lente quoique régulière de 40 ou 45 à la minute; dès que l'intoxication intervient, l'anomalie disparaît et l'animal prend la vitesse respiratoire des autres animaux de son poids.

(1) FONTEYNE : Archives internat. de Pharmacodyn. Vol. XVI, p. 341.

A. — *Intoxication légère.*

L'animal, après avoir reçu son injection, ne manifeste d'abord aucun symptôme qui puisse être remarqué : il mange et ne manifeste aucune préoccupation. Parfois cependant le lapin nous a paru plus calme que d'habitude. Nous ne voyons pas de modifications à sa respiration.

Il n'en est pas de même du pouls qui subit des modifications sérieuses. Dans toutes les expériences qui suivent nous constatons toujours au moins 3 fois le chiffre du pouls avant de l'inscrire sur notre carnet d'expériences et nous obtenons souvent des résultats très concordants : variations de moins de 10 à la minute.

Expérience.

Lapin, 1550 grammes. Injection dans veine marginale de 5 c.c. par kilogr. de l'infusé à 4 %.

Pouls avant l'injection	343	par minute
» 3 minutes après l'injection	252	»
» 6 heures » »	343	»

Pour le reste nous n'avons rien remarqué d'anormal.

L'effet se montre très rapidement parce que l'injection est intraveineuse; la dose équivaut à la moitié de ce que nous emploierons souvent ultérieurement pour provoquer la mort en 1 heure; notre expérience nous permet de dire que le ralentissement était dû ici à la digitale.

B. — *Intoxication sérieuse.*

Expérience.

Lapin 900 gr., injection *sous-cutanée* de 0,002 gr. Digitaline de Nativelle par kilogr. dans du sérum de cheval.

Pouls avant l'injection	= 300	par minute.
» 10 minutes après	= 300	»
» 15 » »	= 300	»
» 4 heures après	= 240	»

L'animal est manifestement malade. Il se tient sur ses pattes, mais il laisse fléchir la tête à terre et l'incline sur un des côtés, premier signe des plus réguliers de leur parésie.

Pouls 24 heures après = 266. Il paraît guéri.
» 48 » » = 300.

L'effet ici a été tardif *à cause de la voie sous-cutanée* choisie : la dose était bien près de la dose mortelle; cette même dose par voie intraveineuse aurait tué en 2 heures certainement.

Autre expérience :

Elle fut faite avec la solution de digitaline au centième envoyée par la firme Nativelle. Comme nous l'avons vu, à cause de l'imparfaite résorption, la dose mortelle est énorme. Cela importe peu ici, car nous ne faisons qu'étudier les phénomènes de l'intoxication.

Lapin 725 grammes : injection sous-cutanée de 17 milligr. par kilogr. de digitaline.

Pouls avant l'injection 264-272.

Quelques heures après nous trouvons ce lapin très malade, couché.

Pouls	8 heures	après	= 196	Très malade, prostration.
»	1 jour	»	= 200	Calme. État meilleur.
»	2 »	»	= 192	Idem.
»	3 »	»	= 160	Idem.
»	4 »	»	= 160	Idem.
»	5 »	»	= 184	Idem.
»	6 »	»	= 240	Bien portant.
»	7 »	»	= 248-256	Idem.
»	8 »	»	= 256	Idem.
»	9 »	»	= 288	Idem.
»	10 »	»	= 288	Idem.

La dose donnée dépasse de loin la dose qui serait mortelle en injection intraveineuse : elle se rapproche de la dose mortelle par voie sous-cutanée pour la digitaline en solution alcoolique.

Nous croyons qu'en pareil cas la résorption de la digitaline se fait lentement, en plusieurs jours, d'où cette diminution durable du pouls, car les injections intraveineuses donnent des effets rapides et plus passagers.

C. — *Description de l'intoxication mortelle.*

Intoxication graduelle par petites doses répétées à 24 heures d'intervalle. — Lapin de 1150 grammes.

Jours.	Pouls par min.	Respiration par min.	Injection par kgr.	État général.
1r jour . . .	320	72—80—95	7 milligr.	
2d jour . . .	296—300	66—68	7 »	
Même jour 6 h. après injectn.	320	100		
3e jour. . . .	312	70—80	7 »	
Même jour 6 h. après injectn.	320	42		L'animal est couché et paraît un peu trop calme.
4e jour . . .	264	68—72	7 »	
5e jour . . .	232—248	54	7 »	
6e jour . . .	264	68	7 »	
7e jour . . .	208—216	44	7 »	Parait indisposé
Même jour 3 h. après. . .	184	44—37		Abattement. Animal couché. (Devant cet état nous avons cessé nos injections).
Même jour 8 h. après. . .	160	36		Grande prostration.
8e jour . . .	120—124	35		Prostration complète.

Trouvé mort, 5 heures plus tard.

Il faut remarquer dans cette expérience la diminution de fréquence de la respiration en même temps que la lenteur graduellement croissante du pouls. La dose donnée chaque fois est la 1/2 de la dose mortelle en une fois (même méthode) elle dépasse le triple de la dose mortelle en injection intraveineuse.

2° Intoxication lente en plusieurs heures par une seule dose.

Le pouls se ralentit graduellement. La respiration s'accélère de plus en plus jusqu'à un maximum, puis elle diminue de fréquence jusqu'à la mort qui survient dans la prostration. Mais on ne peut pas à volonté provoquer l'intoxication de plusieurs heures : tantôt l'animal se rétablit, tantôt il meurt en deux heures environ.

Dans les expériences faites en vue de la recherche des doses mortelles, nous avons très souvent obtenu cette intoxication avec mort après 6 h., 12 h., 18 h.

Nous n'avons le plus souvent pas inscrit les chiffres des battements cardiaques et de la respiration, nous bornant à les constater. Les graphiques présentés plus loin suppléeront.

Expérience :

Lapin 1300 gr. injection dans veine jugulaire de 1,5 milligr. par kilogr. de digitaline Nativelle en solution à 0,5 ‰ dans du serum de cheval.

Pouls avant l'injection = 343 par minute.

Respiration avant » = 92 » »

Pouls 10 minutes après l'injection = 266 par minute.

Respiration » » » = 150 » »

Deux heures après l'injection le prostration est complète mais l'animal est encore sensible. Cœur très ralenti, dyspnée prononcée.

15 heures après l'injection le lapin vit encore et présente un cœur extrêmement lent et une hypothermie considérable. Il meurt 1/4 d'heure plus tard.

3° Intoxication aigue mortelle en une heure.

C'est cette forme qui est la plus intéressante. Elle s'obtient aux doses de 10 c.c. par kilo de notre infusé à 4 % ou par injection intraveineuse de 1 1/2 à 2 milligr. de digitaline par kilo en solution dans du sérum de cheval.

On remarque d'abord un envahissement graduel de la paralysie qui débute aux membres inférieurs puis se généralise et devient plus ou moins complète suivant que l'animal meurt plus ou moins rapidement. L'animal au début laisse pendre la tête comme si elle lui était trop lourde, il glisse sur ses pattes de devant, et finit par glisser complètement sur le côté; mais tout cela calmement, sans douleurs et sans anxiété apparente.

Pendant ce temps la respiration s'accélère et devient moins ample. Elle finit par ne plus être qu'une saccade expiratoire.

En même temps que la respiration devient visiblement plus rapide, le cœur commence à diminuer d'une façon notable. Cette diminution du nombre des pulsations cardiaques simultanément à l'augmentation du nombre des mouvements respiratoires fait que l'on arrive presque toujours à un stade d'isochronisme où le nombre des mouvements respiratoires égale le nombre des pulsations cardiaques.

Il y a, la plupart du temps, émission d'urines, de matières fécales, et parfois des éjaculations.

Si quelques minutes après la mort on ouvre le thorax, on constate régulièrement que le cœur bat encore faiblement : l'oreillette gauche est surdistendue, la veine cave est énorme, les ventricules sont flasques et animés de petites secousses. Quand on coupe la veine-cave le cœur se dégorge et se met à battre plus rapidement pendant quelques minutes.

Le tableau comparatif de ces phénomènes nous laissa entrevoir l'espoir de saisir un stade intéressant même dans la première phase de l'intoxication mortelle : plus tard nous vîmes même que tout l'intérêt de l'étude se porte sur le stade ultime dont nous pourrons tirer des conclusions « a fortiori » pour le stade thérapeutique.

2° Étude détaillée de l'intoxication mortelle en 1 à 2 heures.

A. — *Tension sanguine et respiration.*

L'animal est lié sans violence; la tension sanguine est prise par une carotide : une canule sur la veine jugulaire permet l'injection des solutions toxiques; certains animaux étaient aussi trachéotomisés. Le lapin laisse faire toutes ces manipulations sans excitation douloureuse et sans révolte; seuls les grands mâles sont mauvais sujets. Nous n'employons donc ni chloroforme, ni morphine, ni curare, ni atropine. Cette situation n'est pas comparable à celle qu'offre le chien souvent *morphinisé, curarisé* et *atropinisé* à la fois dans les expériences de beaucoup de nos devanciers.

Injection lente dans la jugulaire de l'infusé à 4 %, environ 1 centimètre cube par minute. Quand l'injection est si lente et que l'on ne manipule pas l'animal il ne se produit aucun signe d'excitation.

La respiration augmente graduellement dès qu'on dépasse la demie dose, mais on a généralement injecté depuis des minutes toute la dose avant d'avoir d'autres symptômes. Alors on voit l'animal faire de fréquentes déglutitions, et le pouls se ralentit et atteint en 30 à 60 minutes la période d'isochronisme où il donne de formidables bonds. Ce stade correspond aux pulsations énormes et très régulières dont on peut suivre la marche envahissante. Finalement l'animal meurt lentement : la tension qui s'était maintenue jusque là baissant assez rapidement les dernières minutes, le cœur donnant toujours ces grandes pulsations espacées, mais elles deviennent tout à la fin irrégulières et inégales. A la dernière période les mouvements respiratoires sont devenus moins fréquents mais très difficiles. L'animal meurt souvent dans des convulsions. Il y a de la parésie musculaire que nous étudierons mieux dans le chapitre suivant.

Voici les graphiques d'une de nos expériences :

Lapin 1950 gr., injection lente par jugulaire de 10 c.c. par kilogr. infusé 4 %. La tension est prise à la carotide au moyen du cardiomètre de Claude Bernard : il donne la tension et ses variations sans réduction, centimètre par centimètre, contrairement au manomètre à deux branches égales. Le tube de raccordement contient une solution de Na_2SO_4, densité 1050, elle irrite moins que $MgSO_4$ quand elle rentre dans les vaisseaux.

Nous traçons une abscisse à différentes hauteurs d'après la tension : la rapidité du tambour tournant reste constante.

1. — Le physiologiste qui voit ce graphique ne peut s'empêcher de comparer ces grands bonds lents à ceux d'une *excitation pneumogastrique continue* de force moyenne, et on comprend très bien que des hommes comme Stokvis, Lauder-Brunton, Cloetta n'aient pu admettre que le nerf vague fut hors cause, malgré les théories prédominantes. Nous verrons d'ailleurs que tout leur donne raison.

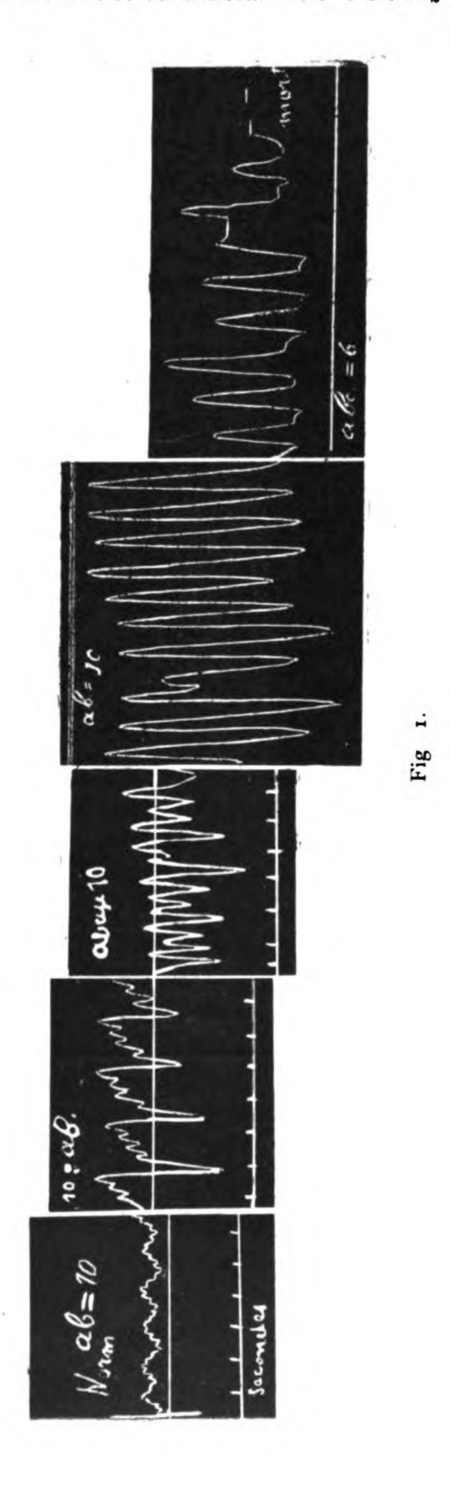


Fig. 1.

2. — Le *ralentissement est admirablement graduel :* une fois constitué il ne varie guère; de rares périodes d'excitation générale donnent çà et là, chez certains animaux, des phases de hausse de tension et d'accélération du cœur durant quelques secondes.

3. — Contrairement à ce qui a été si souvent décrit comme la caractéristique de l'action de la digitale chez le chien, *la tension ne monte pas* au dessus de la normale; nous ne l'avons jamais constaté chez le lapin, sauf quand on laissait pénétrer trop vite le liquide toxique dans les veines; on obtenait d'ailleurs dans ces cas tous les signes d'une anxiété anormale.

4. — Le lapin ne présente pas le stade d'accélération du cœur qui survient toujours chez le chien déjà assez longtemps avant la mort.

La digitaline de Nativelle en *injection hypodermique* à raison de 12 mgr. par kilogr. fait passer l'animal par les mêmes stades. L'animal mis en expérience est mort après 60 minutes; l'invasion des symptômes était plus lente que pour l'infusé; cela dépend de la difficile résorption de la digitaline par le tissu dermique; car le sixième de la même dose tue en 1 heure si on l'introduit dans le sang.

Dans l'expérience suivante, absolument homologue à la première, nous nous occupons spécialement de l'allure de la respiration.

Lapin 2750 gr., tué en 80 minutes par 23 cm³ d'infusé à 4 °/o injecté dans la veine jugulaire. Nous mesurons la respiration par la méthode de Fonteyne (1).

Heure.	Injection.	Nombre de mouvements respiratoires par minute.	Volume en cm³ de 10 respirations.	Pouls par minute.
10 h. 35'		46	200	300
10 h. 40'	Début de l'injection			
10 h. 50'	Reçu 13,5 c.c.	37	250	252
11 h.	Reçu 23 c.c.	46	250	240
11 h. 7'		60	200	240
11 h. 20'		66	170	240
30'		66	90	
35'		85	90	171

(1) Archives internat. de Pharmac., vol. XVI, p. 341.

Cet animal n'était pas encore arrivé à la période d'isochronisme; la mensuration de la respiration est d'ailleurs très difficile à ce stade de l'intoxication, car l'obstacle minimal qu'opposent les soupapes à eau les plus larges, suffit pour asphyxier rapidement l'animal ou le mettre en convulsions.

B. — *État du cœur chez l'animal mort.*

Nous libérant de la suggestion exercée par les affirmations constamment répétées dans la littérature, nous risquons d'enlever le cœur après la mort de l'animal et de l'installer par la méthode de Langendorf, perfectionnée, sur une circulation artificielle. Il est vrai qu'au début nous arrachions vite le cœur quand nous voyions la mort imminente; puis de plus en plus hardi, nous n'y mettions plus aucune hâte, laissant bien mourir l'animal, installant les vases d'irrigation et de chauffage dans l'intervalle de façon à ce qu'habituellement il se passa 10 à 20 minutes entre la chute complète de la tension et la cessation de tout mouvement nasal (l'*ultimum moriens* de l'appareil respiratoire) d'une part, et la mise en bonne circulation artificielle du cœur isolé.

Remarquons que le lapin présente à ce point de vue beaucoup d'avantages. Bien peu de précautions suffisent pour obtenir des battements réguliers et vifs pendant 15 à 20 minutes; certains cœurs même semblent immortels tant que l'irrigation persiste, on peut les découper en lanières, tant qu'on respecte la cloison interventriculaire.

Nous ne comprenons pas pourquoi des auteurs comme Braun et Mager ont voulu étudier le cœur de chat qui ne survit souvent que 3 à 6 minutes et encore avec tant d'irrégularités et de surprises !

Le cœur est placé directement dans un bain de solution physiologique. Cette précaution est négligée par d'Halluin qui s'est beaucoup occupé de la question de la reviviscence du cœur des mammifères. Il est pourtant incontestable que le bain à 36°-37° est d'une très grande utilité. Il suffit de retirer le cœur du bain, puis de l'y replonger, pour voir le changement d'allure manifeste à l'avantage du bain chaud. Le même bain chauffait les serpentins qui amenaient les solutions irrigantes; les températures étaient ainsi garanties constantes, le cœur et tous les tubes différents plongeant dans le même grand bassin.

Pendant assez longtemps au début de nos expériences sur l'isolement du cœur, c'est la solution de Locke comme telle qui fut employée. Nous l'avons modifiée en y triplant la teneur en calcium uniquement parce que nous avons remarqué que le cœur battait mieux avec une dose de calcium plus forte.

La difficulté est dans la bonne oxygénation de cette solution. Elle est souvent insuffisante. Aussi nous y ajoutons des globules rouges de cheval.

Le sang de cheval doit être frais. En le mettant à la glacière il se conserve plusieurs jours.

Il est nécessaire de filtrer le liquide « au papier »; c'est le meilleur moyen d'éviter les embolies qui sont souvent cause des insuccès.

Quand nous voulons faire passer à travers le cœur une dose digitalique, nous l'avons invariablement répartie dans la solution irriguante, et pour son dosage nous avons pris comme dose *type*, que nous nommons *mortelle*, celle qui serait répartie dans le sang du lapin, si elle y restait entièrement en circulation. Par exemple : constatant que 10 c.c. d'un infusé tue un kilogr. de lapin, estimant que le lapin d'un kilogr. a au maximum 80 gr. de sang, nous mettrons 100 c.c. d'infusé sur 800 de solution irriguante.

Notre dernier chapitre montrera que nous sommes trop généreux en faisant cette comparaison : le cœur *in situ* dans le lapin intoxiqué ne reçoit pas une solution aussi forte de digitale, loin de là.

Nos solutions d'irrigation sont donc composées comme suit :

Solution normale	Sol^n de Locke, 800 c.c. Dépôt de globules de sang de cheval, 200 c.c.
Solution digitalique	Infusé digitalique fait au moyen de la sol^n de Locke q. s. additionnée de solution de Locke jusque 800 gr. Dépôt de sang de cheval, 200 gr.

Grâce à une tubulure de décharge latérale de la canule, les liquides peuvent se remplacer en quelques secondes dans la circulation coronaire.

Nos graphiques sont pris au moyen d'un simple fil passant librement au dessus du ventricule et relié à un stylet inscripteur ou par l'intermédiaire d'un tambour très sensible. Elles n'indiquent donc que la fréquence des battements et leur valeur relative au courant d'une même expérience sans déplacement du fil.

Dans beaucoup de cas nous avons seulement compté le nombre de battements, au chronomètre : l'inscription du graphique compliquant les manipulations au moment où toute notre attention était absorbée par la direction des installations.

Disons d'emblée que nous nous trouvons devant trois genres d'expériences.

1° Des cœurs d'*animaux non intoxiqués*; après leur isolement nous les irriguons alternativement par la solution sanguine normale, puis par une solution chargée de la dose simplement mortelle.

Voyant l'innocuité de la dose simple mortelle, nous avons aussi essayé les doses deux et trois fois mortelles.

2° Des cœurs d'animaux ayant succombé à l'intoxication digitalique, sont placés directement après leur isolement sur la solution digitalique à

dose mortelle, puis après avoir constaté leur allure, nous remplaçons la solution toxique par une solution normale non toxique.

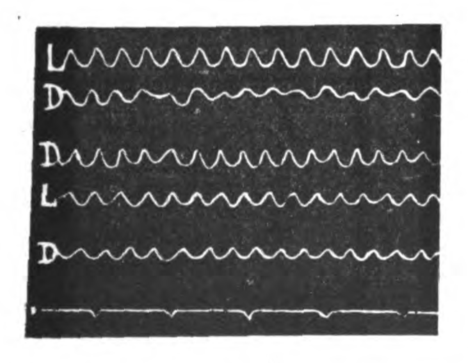
Les résultats furent très convaincants.

I° Non seulement la solution simplement mortelle ne change rien à l'allure du cœur : mais la solution doublement mortelle passe souvent presque inaperçue. Toutefois la doublement mortelle semble parfois affaiblir et ralentir le cœur. La solution triplement mortelle semble dans tous les cas rapidement nuisible.

Nous ne croyons pas que dans cette méthode il faille attendre longtemps avant de voir se développer une action toxique sur le muscle cardiaque quand elle existe ; Hedbom croyait devoir attribuer un ralentissement très tardif et graduel d'un cœur au passage très transitoire d'une solution digitalique, alors même que pendant le passage même il n'y avait eu aucun changement d'allure : cette opinion est tout à fait sans fondements : l'allure des cœurs d'Hedbom se ralentissait déjà avant l'irrigation digitalique, preuve que sa méthode même tendait à provoquer ce résultat.

D'ailleurs nous verrons plus loin qu'à l'état naturel, même après les injections intraveineuses, la digitaline ne circule pas à travers les tissus cardiaques comme dans ces expériences selon Langendorf : inutile donc de trop insister sur la toxicité manifestée par ces méthodes.

Voici l'allure d'un cœur isolé d'un animal sain sous les influences alternantes des deux solutions : solution normale et solution digitalique mortelle. La différence de l'ampleur des deux premiers graphiques dépend d'un changement de position de l'appareil inférieur.



Les lignes L marquent les irrigations sans digitale.

» D » » chargées de digitale.

Chaque solution passait pendant plus d'une minute avant d'être remplacée.

Un grand nombre de cœurs ont ainsi subi l'influence de la solution digitalique simplement mortelle : les pulsations restaient toujours régu-

lières et comptées au chronomètre, elles ne présentaient jamais de ralentissement du à la digitale. Les irrigations peuvent se prolonger pendant des minutes.

II° Quand un animal est mort d'intoxication digitalique qu'on isole son cœur et qu'on le place d'emblée sur une solution digitalique simplement mortelle, ce cœur se comporte comme un cœur sain.

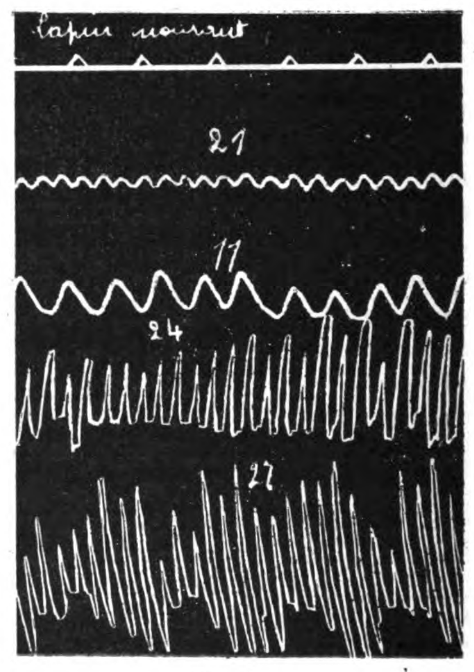


Fig 3.

Dans le graphique ci-contre la ligne supérieure marque les secondes, le premier tracé sousjacent montre l'allure du cœur peu de minutes avant la mort.

Le 2[e] tracé donne l'allure du cœur presque au moment de la mort.

Le 3[e] tracé est livré par le même cœur isolé irrigué par un sang chargé de digitaline à dose mortelle. Le tracé inférieur est donné pendant l'irrigation sans digitaline : le contraste est frappant entre l'allure du cœur in situ avant la mort et le cœur isolé les battements sont au moins deux fois plus rapides qu'à la fin de la vie de l'animal : la transposition sur la solution non toxique n'améliore rien : l'accélération ne mérite guère d'intérêt et se présente souvent après quelques minutes d'irrigation.

Nous avons plus tard régulièrement isolé les cœurs de lapins morts par intoxication : tous ces cœurs se remettaient à battre vivement sans qu'il y ait eu une seule exception, d'ordinaire il se passait 10 minutes entre la mort et l'installation du cœur sur l'irrigation artificielle.

Une fois même nous avons pris le cœur d'un lapin mort depuis une

demie heure : contre notre attente il s'est comporié comme un cœur sain tant que nous avions de la solution irrigante.

C. — *Rôle des nerfs pneumogastriques.*

Expérience.

Supposons le lapin au stade de profonde intoxication digitalique; si du moment où le pouls et la respiration sont isochrones, on sectionne les deux nerfs pneumogastriques, on constate à la fois une forte hausse

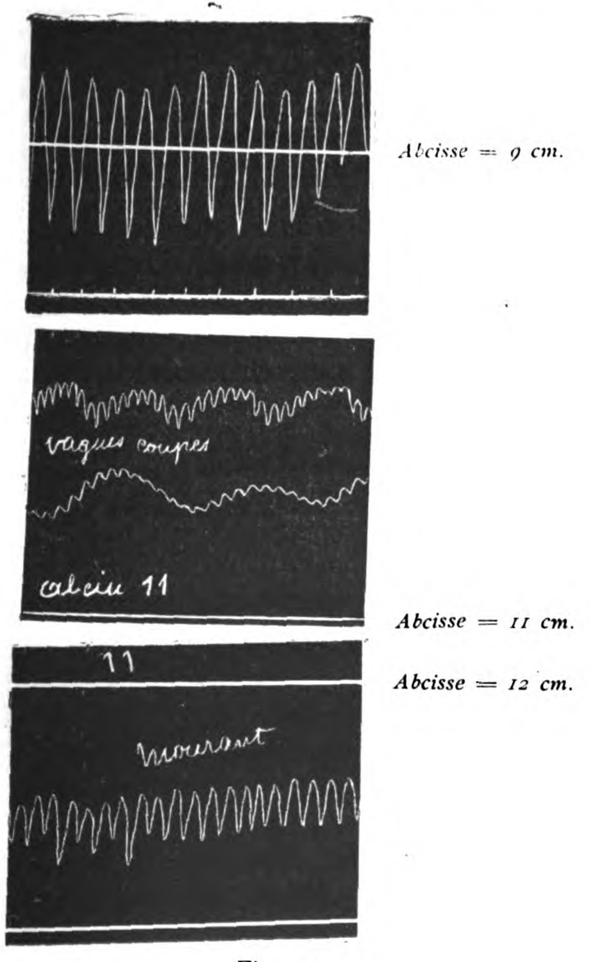


Fig. 4.

de la tension sanguine, et une accélération énorme des pulsations cardiaques. Ultérieurement la tension sanguine baisse lentement et graduellement et le nombre des pulsations décroit progressivement jusqu'à la mort. Mais la lenteur du cœur libéré du nerf vague n'est jamais comparable à celle d'avant la section des nerfs.

Expérience.

Lapin de 2260 gr., mort en une heure après une injection intraveineuse de 20 c.c. d'infusé à 4 °/o. Voici les chiffres principaux de l'expérience :

Le lapin est arrivé au stade des grandes pulsations cardiaques isochrones avec la respirdtion. Le cœur bat 13 fois en 10 secondes; la tension mesurée au sommet des oscillations atteint environ 10 cm de Hg. A ce moment d'isochronisme nous coupons les deux nerfs pneumogastriques. La tension sanguine monte d'un bond vers 13 cm. à 14 cm. et le nombre des pulsations est plus que doublé, comme le montre la ligne la plus élevée de la fig. 2 ci-contre. La seconde ligne représente le pouls cinq minutes plus tard. La tension sanguine s'est abaissée graduellement et le pouls est devenu un peu plus lent. Si on abandonne l'animal à ses propres forces, la tension sanguine s'affaiblit graduellement et le pouls se ralentit surtout pendant les dernières minutes de la vie comme le montre la 3e figure; il y a en ce moment 22 pulsations en 10 secondes et la tension est à 9 cm. de Hg. Puis le cœur devient irrégulier. Quelques secondes plus tard survient la mort.

Le bond de la tension et le changement d'allure du cœur au moment de la section des vagues rappellent fidèlement les phénomènes qui se présentent quand on coupe les mêmes nerfs au cours d'une asphyxie d'un animal curarisé. Le bond de la tension indique que les vasoconstricteurs sont en spasme et que seul le ralentissement du cœur compensait cette cause hypertonisante de la tension.

Nous n'avons pas à insister ici sur le ralentissement final du cœur avant la mort; d'abord la situation est trop complexe pour permettre une interprétation directe et ensuite nous verrons plus tard que dans ces circonstances la cause de la mort est moins la digitale que l'asphyxie.

Nous n'avons à constater ici que l'action éclatante de la section des nerfs vagues.

Voici comme corollaire la tension d'un animal dont les deux nerfs vagues étaient coupés avant l'injection lente et intraveineuse d'infusé à 4 °/o. Nous croyons inutile d'en reproduire les graphiques, le pouls est resté très régulier pendant toute l'expérience.

Le lapin pesait 2150 gr., la solution certainement mortelle était 23 c.c. d'infusé.

Temps.	Tension carotide.	Rapidité du pouls en 5''.
Avant l'injection	10 à 11	21
5' après l'injection de 5 c.c de solution digitalique	10 à 11	20 à 21
5' après les 10 c c.	12	21
1' " 15 "	11 à 12	18
3' " 15 "	12 à 13	19
5 " 15 "	13	19
1 " 20 "	11 à 12	17
7' " 20 "	10 à 11	15
1' " 23 "	11	14
5' " 23 "	9	14
9' " 23 "	8	12

Peu de temps plus tard survient brusquement la mort.

Le ralentissement du pouls qui devient surtout manifeste à la fin n'a pas plus de signification ici que dans l'expérience précédente; encore, n'est-il nullement comparable au pouls digitalique de l'animal dont les nerfs vagues sont intacts.

La hausse de la tension a été franche sans être très notable.

Il résulte des deux expériences précédentes que le pouls digitalique lent et bondissant est bien dû à une influence inhibitive venant de la moelle allongée par les nerfs pneumogastriques.

Nous verrons plus loin comment Boehm a pu douter de ce fait.

D. — *Cause de l'inhibition des nerfs vagues.*

Il nous faut éliminer graduellement l'une après l'autre les influences qui dans l'intoxication digitalique compliquent les symptômes. Puisque tout nous indique que le cœur lui-même ne fait qu'obéir à l'incitation inhibitive venant de la moelle allongée, il nous faut rechercher parmi les multiples causes possibles celle qui par voie réflexe ralentit le cœur.

1° *La tension artérielle. — Saignée.* — Le premier facteur qui se présente à l'esprit dans une situation comme celle-ci est l'hypertension intracranienne. En effet la section des n. vagues nous révèle par la hausse brusque de la tension, qu'il règne à la périphérie une vaso-constriction importante. Cette vaso-constriction pourrait être l'effet primaire de la

digitale, entraînant comme conséquences la hausse de la tension artérielle, l'hypertension intracrânienne et l'inhibition du vague.

Si cela était, il y aurait moyen de couper cette chaîne de conséquences par une sérieuse saignée; une soustraction sanguine de 1 % du poids du corps devrait au moins accélérer pendant quelque temps l'allure du cœur. Or il n'en est rien, comme l'indique l'expérience suivante :

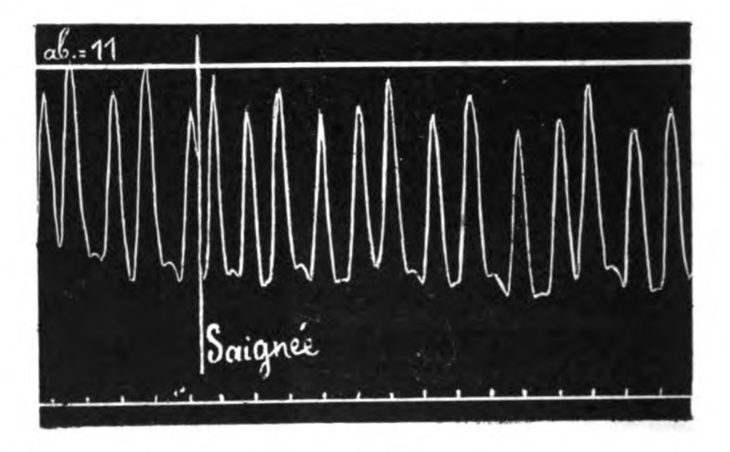


Fig. 5. — A gauche quelques pulsations du lapin en pleine intoxication digitalique *avant la saignée*. La partie droite du tracé est prise aussitôt *après la saignée* qui fut faite par la carotide, sans brusquerie, à 1 % du poids du corps. On voit que rien n'est changé ni dans la fréquence du pouls ni dans la tension. On ne saurait demander deux groupes d'oscillations plus superposables

Nous concluons donc de cette expérience et d'une expérience de contrôle du même genre, que ce n'est pas pour remédier à une trop forte tension sanguine que les pneumogastriques provoquent ces énormes pulsations.

Nous avions commencé une série d'autres expériences pour écarter l'influence éventuelle de la vaso-constriction périphérique, nous voulions notamment conjuguer les circulations de deux animaux dont l'un serait normal et l'autre intoxiqué, et nous luttions depuis quelque temps contre toutes les difficultés de ce genre d'expérience, quand les expériences suivantes nous prouvèrent que tous ces efforts étaient superflus, la vaso-constriction elle-même dépendant d'un autre facteur.

2° *La respiration artificielle.*

La dyspnée si intense qui domine le tableau des symptômes, et dont les conséquences peuvent avoir une si grande portée, devait au moins être écartée du syndrôme digitalique. Non point que l'affaiblissement de la respiration, tel que nous l'avons mesuré plus haut, fut suffisant pour

laisser prévoir une intervention sensible dans les syndrômes, mais parce qu'au moins au stade final l'asphyxie intervient probablement dans les causes de la mort.

Nous fimes donc la trachéotomie pour faire la respiration artificielle au soufflet quand l'animal nous paraîtrait en détresse respiratoire. Le premier lapin que nous avions préparé à ce traitement était en plein stade de pouls digitalique quand nous commençâmes la respiration artificielle : nous ne fûmes pas peu surpris de voir disparaître comme par enchantement tous les symptômes cardiaques de la digitale dès que la respiration artificielle était en jeu. En quelques secondes le chiffre du pouls est doublé et redevient aussi régulier que si l'animal était sain sans intoxication. D'autre part il suffisait de cesser la respiration artificielle et d'abandonner pendant quelques secondes l'animal à ses propres ressources respiratoires pour que le pouls digitalique fut reconstitué dans sa plus belle ampleur.

Cette accélération du pouls n'est nullement accompagnée de la hausse brusque de tension comme après la section des nerfs vagues, il y a bien une petite ascension qui indique que le cœur se régularise plus vite que la vaso-constriction périphérique, mais il faut si peu de secondes pour que la tension soit revenue à la normale qu'il n'y a plus là de quoi s'en préoccuper. Par conséquent nous pouvons sans crainte conclure que la vaso-constriction périphérique qui existe certainement pendant le stade du pouls lent, disparaît aussi rapidement dès que la respiration artificielle intervient. Voilà donc le deuxième grand symptôme de l'intoxication digitalique qui ne dépend qu'indirectement du médicament.

Les ailes du nez du lapin digitalisé et abandonné à lui-même présentent les spasmes inspiratoires les plus accentués, de temps en temps de petits mouvements convulsifs même parcourent tout le corps de l'animal ; et l'animal essaie souvent un changement de position comme s'il était fort mal à l'aise. Or la respiration artificielle supprime aussi complètement tous ces symptômes ; les ailes nasales n'indiquent plus la moindre dyspnée et pendant toute une longue période de l'intoxication, l'animal paraît extrêmement calme comme s'il ne ressentait aucun malaise.

Les changements du tableau symptomatique obtenus par l'installation et la suppression de la respiration artificielle sont absolument constants et peuvent être reproduits avec la plus grande netteté et la plus grande facilité pendant toute la période du pouls digitalique. Nous avons pris ainsi un grand nombre de graphiques à tous les stades et d'animaux différents.

Le graphique suivant, comprenant une suspension puis une réinstallation de respiration artificielle, suivies docilement par les changements du pouls, montre suffisamment la netteté et la rapidité de ces phénomènes qui d'ailleurs ne présentent guère de variantes.

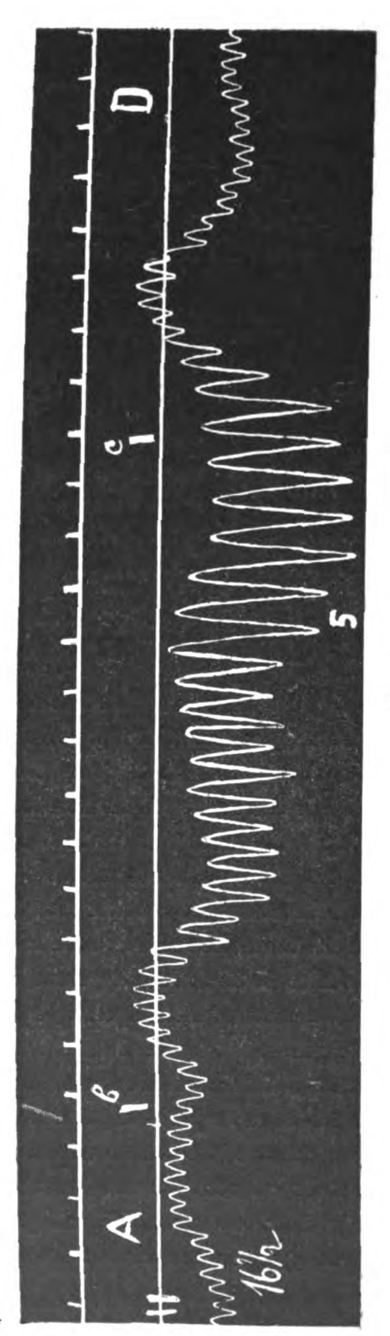


Fig 6

Un grand lapin intoxiqué par une dose mortelle d'infusé de digitale en injection intra-veineuse. Grâce à la respiration artificielle, le pouls est en A d'une rapidité presque normale, la tension se rapproche de 11 centim. de Hg. En *b*, on cesse la respiration artificielle et l'animal respire spontanément, d'abord légèrement puis avec effort : on voit le pouls se ralentir graduellement et atteindre en 10 secondes la lenteur d'un pouls digitalique accentué. Alors en *c*, on recommence la respiration artificielle et le pouls digitalique disparaît après peu de secondes.

Conclusion. — Ces faits indiquent clairement le rôle que joue l'état plus ou moins asphyxique du sang dans l'excitation pneumogastrique du cœur et la vaso-constriction périphérique.

Il est bon de remarquer dès maintenant la rapidité avec laquelle se développent les symptômes asphyxiques; cette rapidité est telle qu'elle nous semble s'expliquer le mieux par une excitabilité exagérée de la moelle allongée. Aux stades avancés il ne se passe pas plus de quatre secondes entre l'arrêt d'une respiration très suffisante et les manifestations violentes de dyspnée; et si on prolonge l'épreuve asphyxique au-delà de 15 à 20 secondes on arrive à des états convulsifs.

Remarquons d'ailleurs que l'animal, abandonné à ses propres ressources, présente le pouls digitalique alors qu'il respire par minute plus de la moitié du volume d'air normal; il est donc dans une asphyxie comparable à celle du sujet morphinisé sans pouls ralenti.

Évidemment cette thèse exigera des preuves directes, mais délicates; selon toute probabilité nous nous trouverons ici devant une hyperesthésie de la moelle allongée, et ainsi le tonus normal des nerfs vagues est augmenté, les besoins de respirer s'exagèrent et comme le volume respiratoire n'est pas augmenté à cause de la paralysie musculaire que nous constaterons nettement plus tard, le syndrôme asphyxique apparaît exagéré et précoce. Quand on satisfait les besoins de la moelle par une vive respiration artificielle, toutes les manifestations réflexes partant du nœud vital disparaissent complètement.

Pour le moment nous avons surtout à constater que le ralentissement cardiaque et la vaso-constriction ne relèvent pas directement de la digitale, puisque la respiration suffisante en supprime les manifestations, Cela nous dispense de toutes les recherches directes qui ont déjà pris tant de temps et de peines aux pharmacodynamistes, cela nous indique surtout une autre voie d'étude à suivre, car il nous faut étudier avant tout l'état du cœur et des vaisseaux chez l'intoxiqué digitalique mis à l'abri de toute influence asphyxique.

Corollaire : Ces observations donnent d'emblée l'explication des contradictions historiques survenues entre Traube et Boehm : tous ceux qui ont injecté le curare et fait la respiration artificielle n'ont pas vu le

ralentissement propre aux nerfs vagues; et pour eux la section de ces nerfs n'a pas accéléré le cœur. Il existe un faible ralentissement produit par d'autres causes mais il est incomparablement moins bien dessiné.

Nous avons aussi l'explication du phénomène qui étonnait si fort Cushny dans son graphique : l'absence du ralentissement du pouls pour un animal digitaliné malgré l'intégrité des nerfs vagues; il avait curarisé l'animal en expérience et faisait la respiration artificielle. Ce fait ne se présente jamais pour les autres substances étudiées par Cushny.

L'auteur a ainsi mis au jour, sans le savoir, une nouvelle différence notable entre le ralentissement digitalique et le ralentissement énorme qui s'observe pour tous les autres poisons du groupe digitalique malgré le curare et la respiration artificielle.

Tous ces faits montrent avec quelle réserve il faut accepter les conclusions qu'on a tiré des faits de vaso-constriction et d'action cardiaque, observés jusqu'ici. Nous trouverons d'ailleurs encore d'autres faits qui achèvent presque le déclassement des succédanés de la digitale.

Annexe.

1° L'influence de la respiration sur les lapins était si prédominante, que nous fûmes curieux d'observer en passant l'intoxication d'autres animaux, plus ou moins sensibles que le lapin. Nous intoxiquâmes des cobayes, des rats, des pigeons.

Les phénomènes cliniques étaient si semblables à ceux du lapin, que nous eûmes la certitude de ne pas nous trouver ici devant un fait spécial au lapin. La parésie musculaire, l'anxiété asphyxique, le stade d'isochronisme cardio-respiratoire, sont marqués avec une netteté frappante : les animaux luttent péniblement contre l'asphyxie, leur état fait vraiment pitié, comme dit Koppe pour les chiens et les lapins, et ils restent parfois longtemps en agonie avec une respiration saccadée, extraordinairement lente et un cœur isochrone avec la respiration.

Les cœurs de cobaye et de rats morts par intoxication, reprennent leurs vifs mouvements dès que l'irrigation de Langendorf les nourrit. Le cœur de pigeon, même sain, est rebelle à l'irrigation par cette méthode : du moins nous ne sommes parvenu à ramener aucun cœur de pigeon.

Nous n'avons pas poussé plus avant cette investigation dans le sens de la généralisation aux espèces animales différentes : chaque espèce présentant de nouvelles difficultés techniques à vaincre.

2° Nous avons voulu vérifier le phénomène sur une des digitalines les plus réputées, la digitaline de Nativelle dont la firme française nous avait généreusement doté.

Tous les phénomènes observés pour l'infusé se répètent sans qu'on puisse voir une différence dans la manière d'agir.

Nous avons parlé plus haut des doses qui s'équivalent pour les différents produits digitaliques.

E. — *Étude de la période de survie.*

La respiration artificielle donne à l'animal intoxiqué une période de survie extraordinaire pendant laquelle se continue la marche croissante de l'intoxication digitalique au point de vue de la circulation et de la paralysie musculaire. Dans ce chapitre nous allons étudier l'état de l'animal pendant la période de survie qui lui est accordée par la respiration artificielle.

Remarquons d'abord qu'il y a moyen de sauver des animaux qui auraient succombé infailliblement à l'asphyxie. Si on n'a donné que la dose sûrement mortelle et qu'on fait la respiration artificielle dès le début de la gêne respiratoire, on voit parfois après 1 1/2 à 2 heures la respiration spontanée reparaître et croître progressivement.

Mais quand nous donnons 1 1/2 dose ou 2 doses sûrement mortelles, l'animal lutte plus longtemps, mais finalement et assez brusquement la tension circulatoire tombe, l'animal fait quelques efforts violents de la gueule et il est mort.

Tout notre intérêt se porte donc vers cette période pendant laquelle l'animal devrait mourir en moins de 2 minutes si nous arrêtions la respiration artificielle. Ce que la digitale n'a pas troublé à cette période, elle ne l'aura *a fortiori* pas modifié aux premiers stades thérapeutiques de l'intoxication.

Nous amenons l'animal jusqu'au stade de survie par une dose massive de 1 1/2 fois la dose mortelle.

20 minutes après l'injection l'animal est au stade voulu.

Alors pendant 30 à 60 minutes, on peut observer les différentes fonctions de l'animal, pourvu qu'on maintienne une bonne respiration artificielle.

1° *État de la circulation.* — La tension circulatoire s'abaisse sous l'influence de ces hautes doses, elle est par moments à 7 centimètres seulement.

Le cœur est toujours ralenti, sans que ce ralentissement ressemble à celui du vague.

Quand on n'a pas exagéré les doses, la tension peut rester presque normale et le cœur conserve sensiblement la rapidité normale.

A. — La section des n. vagues ne change pas la fréquence du pouls. Mais en général la tension monte de 1 à 2 centimètres, et les oscil-

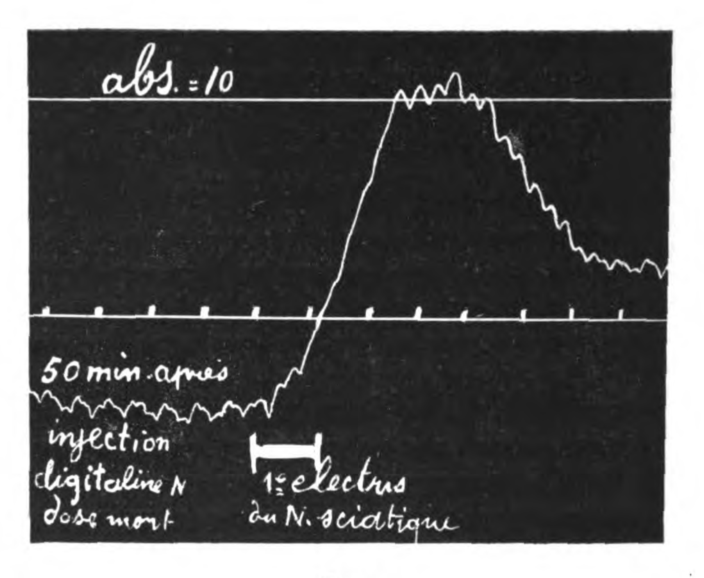

abs. = 10
50 min. après
injection
digitaline N
dose mort
1re électris
du N. sciatique

Fig. 7.

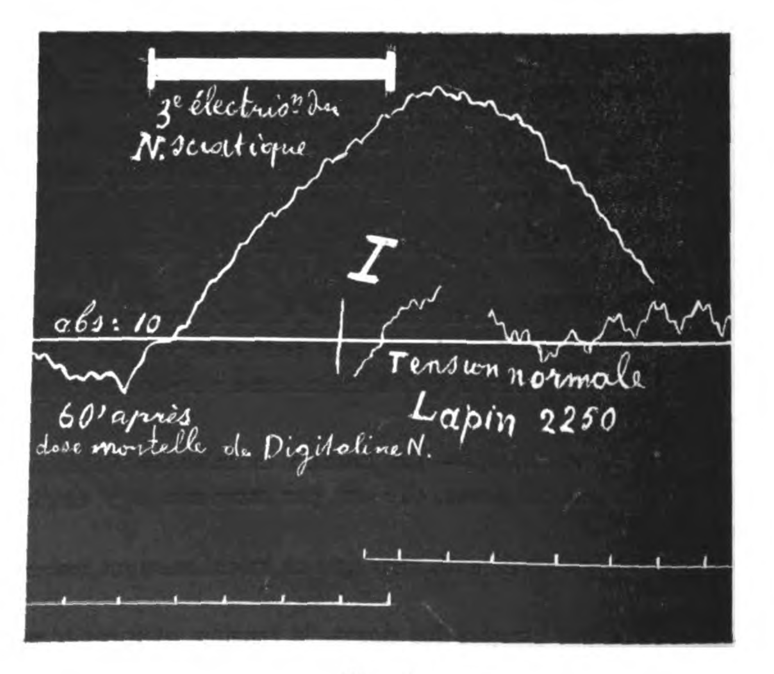

3e électrion du
N. sciatique
I
abs : 10
Tension normale
Lapin 2250
60' après
dose mortelle de Digitaline N.

Fig. 8.

lations isochrones avec la lente respiration (qui se marque au nez seulement) deviennent très grandes.

2° *Vaso-constrictions réflexes.* — Les nerfs vagues étant coupés, et l'animal étant au stade d'immobilité parfaite grâce à sa parésie (dont nous parlons plus loin), nous examinons l'effet d'excitation à la peau, pincement léger des pattes, enfin électrisation modérée d'un nerf sciatique au creux poplité.

Chaque excitation est suivie d'un bond rapide et notable de la circulation; toutefois il vient un moment au stade de paralysie extrême où le pouvoir vaso-constricteur baisse à vue d'œil.

Les deux graphiques fig. 7 et 8 montrent les effets d'électrisations de plus en plus prolongées du nerf sciatique pendant les effets tardifs d'une dose mortelle de digitaline Nativelle. La 1re fois, on a à peine touché le nerf que l'inscripteur bondit; 5 et 10 minutes plus tard, il faut insister 2 ou 4 fois plus longtemps pour obtenir un effet comparable.

Quand la force vaso-motrice commence à faiblir ainsi, nous savons par expérience que l'animal n'aura plus que peu de minutes à vivre.

Mais pendant toute la 1re et la plus longue partie de cette survie, le cœur et les vaso-constricteurs restent capables d'organiser de fortes hausses de tension.

3° *Effets de l'asphyxie.* — Arrivés à l'extrême stade de paralysie, les animaux réagissent à la suspension de la respiration artificielle comme les animaux profondément curarisés.

D'abord hausse de la tension avec les grandes oscillations qui disparaissent pendant le spasme maximal de la vaso-constriction. Puis la tension tombe rapidement sans que le cœur paraisse changer d'allure. On sait qu'à ce dernier stade, la paralysie des vaso-moteurs est d'origine périphérique.

Ici comme dans l'asphyxie simple, le cœur paraît bien l'***ultimum moriens***, les vaso-constricteurs périphériques se paralysent avant eux.

L'asphyxie évolue anormalement vite vers son stade final; parfois elle ne dure qu'une minute; dans un autre cas, après une dose mortelle, elle a duré deux minutes.

Nous avons fréquemment constaté que les périodes d'asphyxie faisaient grand tort à l'animal; chez les animaux que nous faisions bien respirer, pour observer d'autres phénomènes, la tension restait longtemps inchangée ; mais dès que nous commençions à faire des courtes épreuves d'asphyxie pour récolter des graphiques, par exemple, l'état général de nos animaux baissait rapidement.

Une longue asphyxie d'une minute même suivie de forte respiration artificielle, faisait un tel mal que malgré une remontée passagère de la tension, la baisse finale ne tardait pas à se produire.

4° *État du cœur.* — Les cœurs de ces animaux qui, grâce à la période de survie, ont subi l'intoxication complète durant des heures parfois, ont bien battu sur la solution normale comme sur la solution digitalique. Ils se sont comportés de la même façon que ceux extirpés aux lapins morts sans respiration artificielle.

Ce phénomène n'étonne plus quand on voit comment le cœur se comporte, et combien il est encore régulier au milieu de toutes les péripéties de la période finale de survie.

B. — *État des autres systèmes. a/* Jusqu'à la fin l'animal reste *sensible*, et manifeste par des mouvements du nez, qu'il ressent vivement tout choc, à *fortiori* toute intervention opératoire aux pattes postérieures comme ailleurs. A ce point de vue on a mal au cœur de voir les signes de souffrance si nettement manifestés et qui se traduiraient par des cris violents (à en juger par le mouvement de la gueule) quand on électrise un nerf par exemple, alors que tout le reste du corps reste immobile.

b/ La motricité des *muscles* du squelette faiblit graduellement et pendant les 10 dernières minutes elle a complètement disparu, sauf à la face et à l'anus qui restent mobiles jusqu'à la mort, les musles du cou cessent d'être irritables aux derniers moments de la vie.

Tout le reste de la musculature (pattes postérieures et antérieures, muscles du thorax) sont absolument paralysés.

Et contrairement à ce qui arrive pour le curare, les muscles sont absolument inexcitables même pour les plus forts courants induits. Chose curieuse, la respiration paraît des premières gênées.

C. — *Les réflexes* sont manifestement exagérés tant que la musculature n'est pas paralysée. Nous examinons surtout le réflexe rotulien; quand ces réflexes faiblissent, la paralysie définitive est en train d'envahir la musculature; il arrive parfois qu'on trouve un animal sans réactions réflexes, où l'excitation du bout périphérique du nerf sciatique provoque encore quelques contractions faibles.

Résumé concernant le stade de survie.

Paralysie musculaire prédominante, incapacité de respirer, état de la circulation très convenable; paralysie finale de la vaso-constriction; cœur survivant à la musculature périphérique et probablement aux fibres lisses des vaisseaux (du moins dans l'intoxication digitalique compliquée d'asphyxie.)

IIIe Partie. — Recherche de la digitaline dans le corps du lapin.

Nous avons rencontré trois auteurs qui se sont occupés de ce point. A la suite d'un empoisonnement criminel à la digitale, les toxicologistes d'il y a 40 ans ont examiné si on trouve la digitale dans le cadavre: et il

a été reconnu uniformément qu'on ne retrouve les réactions de la digitale que dans les restes du tube digestif, quand elle a été absorbée par la bouche.

Ni urines, ni sang, ni organes broyés dans leur ensemble n'ont donné de réaction chimique ou physiologique (cœur de grenouille) BRANDT (1).

SCOFONE (2) a refait des examens et n'a retrouvé nulle part la digitaline même dans les matières vomies.

La digitaline mise en contact avec les tissus du rat (relativement *immun* contre la digitale) n'est pas absorbée par ces tissus.

Un grand travail de CLOETTA et FISCHER (3) a paru récemment sur le même sujet. En général leurs résultats sont négatifs, pourtant ils croient pouvoir admettre une certaine attraction (Anziehungsvermögen) entre la substance du cœur et la digitale : mais il faut longtemps pour obtenir un certain résultat.

En outre ils ont trouvé une fois une élimination tardive de digitoxine par les urines.

Il nous importait de savoir si, au cas échéant, la digitaline ne disparait pas rapidement du torrent circulatoire, comme plusieurs poisons examinés par le prof[r] Heymans.

La méthode de la transfusion sanguine réussirait mal ici, à cause des doses; nous avons heureusement ici d'autres moyens de reconnaître le médicament.

Pour reconnaître les petites quantités de digitaline dans le sang, nous avions le choix entre les réactifs chimiques et les réactifs physiologiques : le cœur de la grenouille rousse. Les essais avec les réactifs chimiques nous ont donné peu de satisfaction, la réaction au H_2SO_4 et et brôme, nous a paru souvent bien difficile à interprêter, aussi nous avons préféré employer le cœur de grenouille qui est si sensible à la digitale.

Pour la préparation du cœur, nous détruisons le cerveau et la moelle sans provoquer d'hémorrhagie, puis après quelques minutes d'attente nous découvrons le cœur, en évitant de blesser la veine abdominale. Alors nous glissons une canule par la veine cave au-dessus du foie vers l'oreillette, nous n'ouvrons aucun autre vaisseau. Par la canule nous amenons le liquide d'irrigation : sang de cheval battu ou sang de lapin battu; nous nous contentons pour cela de mettre un centimètre cube à la fois du liquide dans la canule en verre; la colonne de liquide dans la canule n'est jamais qu'à 1 ou 2 centimètres de hauteur. Comme nous

(1) BRANDT : Forensische Chemie der Digitalis. Dorpat. 1869.
(2) SCOFONE : Toxicité comparée de la digitaline. Genève 1894.
(3) CLOETTA et FISCHER : Arch. f. exper. Path. u. Pharm. 54. 1906.

avons respecté les aortes, le ventricule travaille dans ses conditions les plus normales.

Cette simplification de la méthode de LUDWIG-COATS permet d'opérer des grenouilles de taille inférieure, et comme il s'agit pour nous de constater oui ou non l'arrêt typique du cœur après le passage d'un nombre plus ou moins grand de centimètres cubes de solution d'irrigation, cette méthode est suffisante et exceptionnellement simple.

Une série d'expériences nous révèle d'abord que notre mode d'agir permet de reconnaître d'une façon certaine 0,1 milligr. réparti dans 10 centim. cube de sang. A cette dose le cœur s'arrête vers le 2e ou le plus souvent le 3e centimètre cube d'irrigation qui le traverse.

Une dose encore plus faible, 0,05 mill., arrête encore d'une façon typique après un passage plus prolongé.

Si un cœur n'a pas été arrêté par une solution en analyse, nous faisons ensuite passer une solution chargée de la dose minimale, et nous constatons par l'arrêt obtenu que le cœur en expérience ne présente aucune immunité idiosyncrasique contre la digitale.

Cette sensibilité des cœurs suffit pour exclure au cas échéant la présence de doses efficientes de digitaline dans le sang.

Examen du sang pendant la vie. — Pour voir si la digitaline circule dans le sang de l'animal intoxiqué, nous avons fait chez un lapin malade des saignées à divers moments de l'intoxication et nous avons alors recherché si effectivement le digitaline se trouve encore en circulation.

Expérience.

Lapin de 1450 gr., injection de 2 milligr. par kilo de digitaline en solution dans du sérum de cheval (solution 0,4 °/₀₀).

4 h. 45', saignée par carotide de 7 c.c. (sang normal).

4 h. 51', début de l'injection.

5 h. 1', fin de l'injection. On fait la respiration artificielle, car le lapin commence à avoir de la dyspnée.

5 h. 2', saignée (nº 1) de 6 c.c.

5 h. 7', saignée (nº 2) de 6 c.c.

5 h. 20', saignée (nº 3) de 5 c.c.

5 h. 31', mort de l'animal. On ouvre le thorax. Le ventricule gauche est blessé et par la blessure on recueille un nouvel échantillon de sang (nº 4).

Les divers échantillons de sang sont battus, puis filtrés. Ils servent à irriguer des cœurs de grenouille.

Résultats donnés par les divers échantillons de sang dans l'irrigation du cœur de grenouille.

Le sang normal du lapin fait bien battre le cœur.

Sang nº 1 (1' après la fin de l'injection) : nous avons fait passer à travers le cœur 4 c.c. de cet échantillon et nous n'avons pas vu son allure se modifier en aucune façon.

Sang nº 2 (6' après la fin de l'injection) : identiquement la même chose qu'avec le sang nº 1. Le cœur bat comme avec le sang normal.

Sang nº 3 (19 minutes après la fin de l'injection) : 4 c.c. de cet échantillon traversent le cœur. Le ventricule paraît ne plus se distendre aussi facilement à la diastole, mais le phénomène est très peu accentué.

Sang nº 4 (après la mort) : 7 c.c. passent à travers le cœur. A ce moment on remarque que le ventricule ne se distend plus par zône. Il y a plusieurs contractions de l'oreillette, qui est très distendue, pour un battement du ventricule.

Ce lapin de 1450 gr. avait environ 110 c.c. de sang. Il a reçu 2,9 milligr. de digitaline, ce qui fait 0,00026 gr. dans 10 c.c. de sang. Le sang de l'animal devrait donc contenir 0,00026 gr. de digitaline dans 10 c.c. en supposant que toute la digitaline reste dans le sang. Or, l'échantillon nº 1 pris une minute après la fin de l'injection s'est montré avec 4 c.c. complètement inapte à arrêter le cœur, même à diminuer sa force de contraction d'une quantité appréciable, alors que d'autre part 1 à 2 c.c. d'un sang contenant 0,000.1 gr. pour 10 arrête les contractions du ventricule rapidement.

Donc, la grande majorité de la digitaline, si pas toute, n'est plus dans le sang.

Autre expérience.

Lapin 1050 gr. Injection dans la veine jugulaire de 0,002 gr. de digitaline de Nativelle dissous dans 2,5 c.c. de serum de cheval.

L'injection dure 5 minutes.

5 minutes après la fin de l'injection nous prenons un premier échantillon de 10 c.c. de sang par la carotide.

15 minutes après la fin de l'injection, le lapin est en pleine intoxication. Le cœur est très ralenti. La dyspnée est intense.

Nous saignons alors le lapin à mort. C'est notre second échantillon de sang.

Examen des échantillons au cœur de grenouille. — Nous avons avec ces échantillons irrigué un cœur de grenouille; 6 centimètres cubes de chacun des deux échantillons ont nourri le cœur qui continue à battre admirablement. Ce même cœur irrigué avec un sang contenant 0,0001 gr. de digitaline par 10 c.c. s'arrête en systole après le passage de 1,5 c.c.

Ce lapin de 1050 avait environ 80 c.c. de sang. Si la digitaline était restée dans son sang, elle s'y serait trouvée en concentration de 0,000.3 gr. pour 10 de sang. Si la digitaline avait été dans son sang ne fut-ce qu'en partie nous l'aurions décelée, grâce à la sensibilité du cœur de grenouille comme réactif.

Contrôle. — 1º Pour voir si le sang n'altère pas la digitaline, nous avons mis 0,000.2 gr. de digitaline dans 10 c.c. de sang et nous avons chauffé pendant trois heures à 36º-37º. Au bout de ce temps nous avons

irrigué un cœur de grenouille avec ce sang. Le cœur s'est arrêté après passage de 2 c.c. Une autre solution identique à la précédente mais faite extemporanément arrête aussi un cœur avec 2 c.c. La digitaline n'est donc pas affaiblie par son contact avec le sang.

2° Il se pourrait que la digitaline se fixe sur la *fibrine* et que après le battage il soit ainsi tout naturel de ne plus la retrouver dans le sang.

Nous avons fait à ce sujet le contrôle suivant : 0,000.25 gr. de digitaline dissous dans du sérum de cheval sont mis dans un récipient. On saigne d'autre part un lapin de façon à ce que le sang de sa carotide coule directement dans le récipient qui contient la digitaline, on recueille ainsi 10 c.c. de sang.

Ce sang est battu puis filtré et sert alors a irriguer des cœurs de grenouille. Il ne semble pas avoir perdu de sa toxicité. En effet, avant que deux cm^3 de ce sang n'aient irrigué le cœur, le ventricule était déjà spasmodiquement contracté et le sang ne pouvait plus le traverser malgré les contractions encore persistantes de l'oreillette. Donc, le sang battu ne perd pas sensiblement sa digitaline et celle-ci n'est pas affaiblie par son contact avec le sang. Nous avons d'ailleurs laissé des sangs digitaliques pendant plusieurs heures à 36°-37° sans voir leur toxicité s'amoindrir.

Comme conclusion nous pouvons dire que la digitaline introduite directement dans la circulation par voie intra-veineuse disparait avec une rapidité extrême du sang.

Où est-elle allée ? S'il est bien vrai, comme Cloetta et Fischer semblent l'avoir montré, qu'en broyant tout le corps on peut retrouver les réactions de la digitale, cette drogue doit avoir des affinités qu'on ne soupçonne pas encore.

Nous avons fait l'extrait alcoolique-chloroformique du poumon de notre second animal : résultat nettement négatif.

Nous avons remis des muscles, du cerveau, du foie en présence de digitaline : celle-ci reste absolument libre.

Un fait reste : elle disparait si rapidement de la circulation que jamais aucun organe ne reçoit une solution concentrée de digitale. Comme il faut injecter peu à peu, la disparition marche certainement de pair avec l'injection.

Cela jette une bien triste lumière sur tous les efforts faits avec l'irrigation artificielle du cœur isolé. Jamais le cœur *in situ* n'est mis en contact avec des solutions riches en digitale !

Annexe. — L'helléboréine.

Avant de clôturer ces expériences, nous avons voulu refaire une expérience similaire avec une des nombreuses substances du groupe digitalique de Schmiedeberg. Nous avons choisi l'helléboréine, qui a fait l'objet de tant de travaux (Williams, Dreser, Kobert, Wybauw).

Après avoir cherché la dose mortelle en une heure, nous opérons un lapin vigoureux de 2600 gr. dans les mêmes conditions que pour la digitale.

Les phénomènes diffèrent radicalement de ceux observés pour la digitale. Il nous suffira de les exposer succinctement.

La dose mortelle, 1 mgr. par kilo, était répartie en 10 cm^3 de serum de cheval.

L'animal a reçu à peine un dixième de la dose que le cœur devient irrégulier : graphique II.

Après 2 minutes il est revenu au calme en III.

Malgré une lente introduction de moins de 1 cm^3 à la minute, nous voyons les irrégularités du cœur apparaître dès que le liquide pénètre, ce que la digitaline ne faisait jamais : graphique IV. On croirait y voir une lenteur du cœur correspondante à celle que la digitale développe après 20 à 30 minutes d'incubation; mais l'auscultation du cœur fait reconnaître un galop de 2 pulsations qui ne sont marquées que par un seul bond dans ces courbes. Au niveau de chaque forte baisse, il y a une vraie intermittence.

Il suffit d'attendre quelques minutes pour voir le cœur reprendre son allure primitive dans les graphiques ultérieurs.

Dès que le lapin a reçu la demie dose, la respiration présente nettement le type Cheyne-Stokes, que jamais le lapin digitalique n'a montré, et qui est d'ailleurs très rare dans les intoxications pharmaceutiques.

Après une heure le lapin avait reçu sa dose mortelle, la respiration est devenue alors de plus en plus stertoreuse et agitée; la respiration étant très rapide elle fut isochrone avec les battements marqués mais cet isochronisme est dû ici à l'accélération respiratoire et non au ralentissement cardiaque; ultérieurement l'isochronisme disparaît de nouveau.

Les phénomènes restent ainsi quelques minutes; fortes respirations au point que toute respiration artificielle paraîtrait ridicule; irrégularités du cœur en VII, puis brusquement une anxiété, une convulsion vive et la mort en syncope survient.

Autopsie sans retard : le cœur est immobile.

Le cœur rapidement isolé et mis sur une circulation de Langendorf, n'a pas présenté la moindre manifestation de vie; ni l'excitation éleç-

Lapin 2600

Helleboreïne

I

Normal

II Injection intrav 0,2 m = 1/10 dose mortelle

III

IV

V Reçu 0,6 1/3 dose mortelle

VI Reçu 1,2 mgr

VII dose mortelle avant la mort

Fig. 9

trique, ni le massage ne l'ont réveillé. HEUBEL a signalé ce fait pour les cœurs intoxiqués à l'helléboréine et à la strophantine.

De tous les cœurs de lapin que nous avons observés, c'est le seul qui n'est pas revenu au moins à quelques pulsations plus ou moins régulières.

Signalons encore que lors de l'autopsie, les muscles pectoraux se contractaient vivement lors de l'incision, ce que la digitale à dose mortelle empêche toujours.

Il nous est bien permis d'affirmer après tant de divergences observées, que l'helléboréine n'agit nullement comme les digitalines; surtout la mort du cœur place l'helléboréine parmi les vrais poisons cardiaques, alors que ce titre ne peut plus être donné à la digitale.

Nous avons donc toutes les raisons pour nous, et il faut revenir à cette règle primordiale en thérapeutique : n'assimiler des substances différentes quant à leurs effets toxicologiques, qu'après en avoir fourni dûment les preuves.

Considérations générales.

Les phénomènes observés sont si clairs, qu'il nous semble superflu de discuter les théories courantes sur l'action thérapeutique de la digitale.

Actuellement les tendances des travailleurs contemporains vont de nouveau vers l'action purement cardiaque, même au stade thérapeutique.

Or, nous montrons non seulement que la digitale ne touche pas au cœur au stade thérapeutique, mais qu'au moment où le lapin meurt intoxiqué, le cœur et la tension circulatoire sont en excellent état : à fortiori le cœur doit-il être indemne pendant la 1re période de l'intoxication.

Les changements de la circulation sont dûs à une influence nerveuse de la moelle allongée; cette influence force le cœur à se ralentir, donc à épargner ses forces; elle compense d'autre part les effets du ralentissement par une vaso-constriction périphérique. Loin donc de forcer le cœur à un travail supplémentaire, loin de l'exciter comme par un coup de fouet, la digitale nous apparait comme une drogue sans rivale, forçant le cœur au calme sans toucher à ses forces individuelles, sans risquer une baisse de la tension sanguine. Elle épargne le cœur aux dépens de toutes les autres fonctions.

Pour autant que les explications soient permises dans des sujets aussi compliqués, il nous semble que l'hypothèse que nous ébauchons cadre le mieux avec tous nos faits observés, et interprête le mieux l'effet hautement bienfaisant de la digitale dans les cas les plus variés.

Nous émettons ces idées uniquement pour montrer de quelle

importance notre étude peut devenir au point de vue des indications et contre-indications pratiques de la digitale. La digitale a donné trop de déboires et trop de surprises aux grands thérapeutes du passé, pour qu'on ne soit pas sur ses gardes avec elle.

Conclusions.

Le ralentissement du cœur au premier stade de l'intoxication digitalique est dû à l'influence des nerfs vagues.

La respiration artificielle supprime cette influence inhibitive des nerfs vagues et rend au cœur sa fréquence primitive sauf au stade ultime. Elle supprime en même temps toute anxiété et l'hypertension par vaso-constriction périphérique. De plus, elle permet une longue survie à l'animal. Cette survie est telle que si on cesse la respiration artificielle, l'animal meurt rapidement par asphyxie.

Chez l'animal intoxiqué auquel on fait la respiration artificielle, la section des nerfs vagues ne provoque pas d'accélération du cœur. Cela explique l'observation de Boehm et de Cushny concernant les animaux curarisés.

Le cœur d'un lapin mort par la digitale se montre parfaitement vivace. D'ailleurs, pendant la période de survie, le cœur se montre régulier, fort, capable de réagir énergiquement sous les excitations réflexes.

Presque toute la musculature meurt avant le cœur et devient inexcitable.

Le cœur irrigué par une solution de sang chargée d'une dose mortelle ne manifeste aucune irrégularité.

A la période où apparaissent les premiers phénomènes de l'intoxication digitalique, le sang ne charrie déjà plus de dose reconnaissable de digitaline même quand la drogue a été introduite par injection intraveineuse.

Travail de l'Institut de pharmacodynamie et de Thérapie
de l'Université de Gand

47. Sur la vaccination antituberculeuse chez les bovidés [1]

(Deuxième communication)

PAR

J. F. HEYMANS.

Il y a un an, nous exposâmes à cette même place [2] les premiers résultats de la vaccination antituberculeuse; depuis lors, grâce aux précieux concours déjà cités alors, nous avons pu continuer nos expériences sur une grande échelle et recueillir différentes séries de faits qui précisent davantage la valeur de cette méthode.

En ce qui concerne l'opération de la vaccination, nous pouvons être bref et nous contenter de dire qu'elle a continué à se montrer d'une innocuité parfaite, immédiate et éloignée, dans plus de vingt mille vaccinations ou revaccinations pratiquées jusqu'ici.

La technique de l'opération, simplifiée de plus en plus au contact de la pratique, a acquis une forme vraisemblablement définitive que nous décrirons prochainement.

Que le sac de roseau laisse diffuser les produits actifs de la sécrétion des bacilles enfermés en lui et qu'il ne laisse pas passer ces bacilles eux-mêmes, cela résulte d'expériences multiples et variées qui ont été confirmées et complétées par les recherches récentes de MM. Haibe et Verdonk. Nous rappelons seulement deux ordres de faits : de la tuberculine brute ou des bacilles vivants sont enfermés dans un sac de roseau

(1) Lecture faite à l'Académie royale de Médecine de Belgique. Séance du 29 février 1908

(2) Séance du 23 février 1907. Cfr. Arch. intern. de pharmacod. et thérapie, 1907 vol. XVII, p. 133.

qui ensuite est placé dans du bouillon; ce dernier acquiert les propriétés de la tuberculine. Le sac de roseau placé chez la bête bovine est d'ordinaire trouvé intact à l'autopsie; les bacilles se trouvent exclusivement à l'intérieur du sac, tandis que la membrane enkystante ainsi que les premiers ganglions lymphatiques efférents n'en renferment pas.

Comme expériences nouvelles montrant la différence entre les animaux sains vaccinés et les animaux sains témoins, exposés ensemble et d'emblée à la même contagion naturelle, nous signalons l'histoire de dix-huit sujets sains, c'est-à-dire n'ayant pas réagi à la tuberculine, dont neuf furent conservés comme témoins et neuf vaccinés. D'après le résultat des retuberculinations et des autopsies, trois témoins sont restés indemnes et six sont devenus tuberculeux, dont l'un, au point que la viande a dû être déclarée impropre à la consommation; par contre, parmi les neuf vaccinés, sept sont restés indemnes, un présenta des lésions suspectes, et un des lésions manifestement tuberculeuses. La durée et le résultat de cette expérience sont résumés dans le tableau suivant :

n° 875	bouvillon	2-8-06 T—	témoin	11-1-07 T +; 26-4-07 abattu (après 8 1/2 mois), tuberculose = +
n° 876	id.	2-8-06 T	vaccination	30-8-07 abattu (après 12 mois), tub. = 0
n° 878	taurillon	16-8-06 T—	id	24-1-08 abattu (après 17 mois) tub. = 0
n° 879	bouvillon	16-8-06 T—	témoin	6-11-06 abattu (après 3 mois), tub. = 0
n° 880	id.	16-8-06 T—	vaccination	12-7-07 abattu (après 11 mois), tub. =
n° 881	génisse	16-8-06 T—	id.	12-2-07 abattu (après 6 mois), tub. = 0
n° 886	id.	20-9-06 T—	id.	5-6-07 abattu (après 9 mois), tub. = ?
n° 887	bouvillon	20-9-06 T—	témoin	4-10-07 abattu (après 12 1/2 mois), tub. = 0
n° 888	id.	20-9-06 T—	vaccination	27-9-07 abattu (après 12 mois), tub. = 0
n° 889	id.	20-9-06 T—	témoin	13-12-07 abattu (après 15 mois), tub. = +
n° 890	id.	20-9-06 T—	vaccination	25-10-07 abattu (après 13 mois), tub = 0
n° 891	id.	20-9-06 T—	témoin	25-10-07 abattu (après 13 mois), tub. = + saisie
n° 893	id.	20-9-06 T—	id.	14-6-07 T +; vit encore, considéré comme tuberculeux
n° 894	id.	20-9-06 T—	id.	19-12-06 abattu (après 3 mois), tub. = 0
n° 895	id.	20-9-06 T—	vaccination	13-6-07 T—; vit encore, considéré comme non tuberculeux.
n° 896	id.	20-9-06 T—	témoin	30-12-07 abattu (après 15 mois), tub = +
n° 897	id.	20-9-06 T—	vaccination	22-11-07 abattu (après 14 mois), tub. = 0
n° 898	id.	20-9-06 T—	témoin	6-12-07 abattu (après 15 mois), tub. = +

Soit :	n° 875 +	n° 876 O
	n° 879 O	n° 878 O
	n° 887 O	n° 880 +
	n° 889 +	n° 881 O
	n° 891 +	n° 886 ?
	n° 893 +	n° 888 O
	n° 894 O	n° 890 O
	n° 896 +	n° 895 O
	n° 898 +	n° 897 O

Témoins 9 { 6 + ; 3 — }   Vaccinés 9 { 1 + ; 1 ? ; 7 — }

Ces dix-huit animaux ont séjourné dans l'exploitation n° 2 encore toujours contagieuse, comme le démontrent les infections nombreuses ci-dessus, ce qui n'empêche que la vaccination nous y a donné sur le bétail total le résultat suivant :

	Total	—	?	+
Etable n° 2 : Décembre 1905	125	14	—	111
11-1-1907	129	63	14	52
31-12-1907	128	86	10	32

Donc au début, en décembre 1905, nous y notons 111 réactions positives et seulement 14 réactions négatives sur un total de 125 sujets; lors de la tuberculination générale du 11-1-07, nous relevons déjà sur un total de 129 sujets, seulement 52 réactions positives, 14 réactions douteuses et 63 réactions négatives. Enfin, lors de la retuberculination générale du 31-12-07, les réactions positives sont tombées à 32, les réactions douteuses sont au nombre de 10 et les réactions négatives sont montées à 86, sur un total de 128 sujets.

Dans l'exploitation n° 3, dont nous parlions déjà dans notre communication précédente, les résultats de la tuberculination sont encore plus favorables : lors de la première tuberculination et vaccination du 19-1-06 sur un total de 37 sujets, on relève seulement 5 réactions négatives et 32 réactions positives; le 12-1-07 sur un total de 42 sujets, 26 réactions négatives, 5 réactions douteuses et 11 réactions positives; enfin le 31-12-07 sur un total de 40 sujets, d'une part 31 réactions négatives, 5 réactions douteuses et d'autre part seulement 4 réactions positives. Ces 3 tuberculinations sont reproduites dans le tableau suivant, qui indique en même temps le résultat obtenu chez le bétail de repeuplement.

Étable matricule n° 3.

N° d'inventaire	T. du 19-1-06					T. du 12-1-07						T. du 31-12-07				
	Nombre	0 h.	12 h.	15 h.	Réaction	Nombre	0 h.	12 h.	15 h.	18 h.	Réaction	Nombre	0 h.	12 h.	15 h.	18 h.
3	1	39.0	41.1	41.1	+	1	39.5	38.9	39.4	39.3	—	1	38.4	38.8	38.8	[illegible]
40	2	38.8	41.5	41.4	+	2	39.0	39.4	39.7	39.5	?			élimine		
48	3	38.6	41.2	41.3	+	3	38.8	39.7	40.4	39.8	?	2	38.2	38.8	39.4	[illegible]
51	4	38.8	40.9	40.7	+	4	39.0	39.0	39.4	38.9	—	3	38.6	39.1	38.7	[illegible]
52	5	38.7	40.7	40.1	+	5	39.1	40.1	40.5	40.0		4	38.9	39.0	38.8	[illegible]
57	6	38.9	41.2	41.0	+	6	38.7	38.8	39.1	38.8	—	5	38.4	39.1	39.4	[illegible]
58	7	38.5	41.1	40.4	+			éliminé								
60	8	39.1	40.8	40.9	+	7	39.0	39.0	39.0	38.8	—			éliminé		
64	9	39.2	41.7	41.0	+			absent				6	38.9	38.8	38.8	[illegible]
65	10	39.1	38.6	38.9	—	8	39.2	38.7	38.8	38.9	—	7	38.3	39.0	39.3	[illegible]
110	11	38.1	38.2	38.5	—	9	38.8	38.7	38.6	38.3	—			éliminé		
111	12	38.5	40.9	40.7	+	10	39.1	39.6	40.0	39.6	+	8	38.4	39.5	39.2	[illegible]
112	13	39.5	38.7	39.2	—	11	39.1	38.4	39.0	38.8	—	9	38.3	38.8	38.8	[illegible]
113	14	38.6	40.0	39.7	+	12	38.1	40.5	40.7	40.8	+	10	38.8	39.8	39.2	[illegible]
114	15	38.8	38.2	38.6	—	13	38.9	38.7	38.9	38.5	—	11	38.4	38.6	38.4	[illegible]
115	16	38.6	39.1	40.0	+	14	38.8	39.3	39.6	40.1	+			éliminé		
117	17	38.6	39.8	39.8 (1)	+	15	38.8	39.3	40.1	39.7	+	12	38.5	38.9	39.4	[illegible]
118	18	38.3	38.9	39.5	+			éliminé								
124	19	38.7	39.7	40.6	+	16	39.2	39.0	39.2	39.6	?			éliminé		
131	20	38.7	41.2	40.8	+			éliminé								
132	21	38.6	39.2	40.0	+			éliminé								
134	22	39.0	40.7	39.1	+	17	39.0	38.8	39.1	38.7	—			éliminé		
137	23	38.6	41.0	41.0	+			éliminé			+					
189	24	38.2	40.7	40.3	+			éliminé			—					
204	25	38.6	40.2	40.3	+	18	38.8	38.9	39.2	39.0		13	38.6	38.9	38.9	[illegible]

(1) La température n'ayant pas été relevée à la 18e heure par suite d'une circonstance fortuite, les réactions des bêtes nos 117, 118, 220 et 310 ont été considérées comme positives.

T. du 19-1-06					T. du 12-1-07						T. du 31-12-07					
Nombre	0 h.	12 h.	15 h.	Réaction	Nombre	0 h.	12 h.	15 h.	18 h.	Réaction	Nombre	0 h.	12 h.	15 h.	18 h.	Réaction
26	38.4	40.3	39.7	+	19	39.0	38.8	38.8	38.5	—	14	38.4	38.9	39.0	38.8	—
27	38.1	38.7	39.6	+		éliminé										
28	38.7	40.6	40.5	+	20	38.7	39.0	39.4	39.0	—		éliminé				
29	38.5	38.4	39.8	+		éliminé										
30	39.0	40.3	40.3	+	21	39.0	38.9	39.2	39.3	—	15	38.8	39.7	39.6	39.1	
31	38.5	38.5	38.8	—		éliminé										
											16	38.6	38.6	38.5	39.0	—
32	38.9	41.4	41.7	+	22	39.4	38.9	39.0	38.9	—		éliminé				
33	39.0	40.4	40.8	+	23	39.5	39.5	39.8	39.1	?		éliminé				
34	38.9	40.7	41.0	+	24	38.8	40.0	40.6	39.8	+	17	38.4	39.4	39.3	38.9	—
35	39.0	40.3	40.8	+	25	38.9	39.8	40.1	39.3	+	18	38.8	38.8	39.0	39.1	—
											19	38.7	38.9	39.2	38.8	—
					26	38.7	38.4	38.7	38.3	—	20	38.4	38.6	38.4	38.8	—
					27	39.2	39.0	39.2	39.0	—	21	38.8	39.2	39.1	39.3	—
					28	38.9	38.4	38.8	38.8	—		éliminé				
											22	38.6	38.6	38.5	38.6	—
36	38.8	40.6	40.7	+	29	38.8	39.5	39.9	39.2	?		éliminé				
37	39.0	41.3	41.1	+	30	38.7	38.9	39.2	38.3	—		éliminé				
											23	39.0	39.1	38.9	38.9	—
					31	39.1	39.0	39.4	38.9	—	24	38.6	38.8	38.6	38.5	—
					32	39.0	38.8	39.1	38.9	—	25	38.4	38.8	38.8	38.6	—
					33	38.9	38.7	39.1	39.3	—	26	38.5	38.9	38.8	38.7	—
					34	39.0	39.2	39.9	40.1	+	27	38.8	39.7	39.7	41.0	+
					35	38.8	38.6	38.6	38.6	—	28	38.4	38.8	38.6	38.4	—
					36	39.2	40.9	41.5	41.0	+		éliminé				
					37	38.9	38.6	39.0	38.9	—	29	38.7	39.0	38.7	38.6	—
					38	38.9	39.0	39.0	38.9	—	30	38.9	38.7	38.9	39.0	—
					39	38.9	38.6	39.0	39.0	—	31	38.8	39.4	38.9	39.0	—
					40	39.1	38.8	39.0	38.8	—	32	39.0	38.9	38.8	38.9	—
											33	38.7	40.9	41.5	40.9	+

N° d'inventaire	T. du 19-1-06					T. du 12-1-07						T. du 31-12-07				
	Nombre	0 h.	12 h.	15 h.	Réaction	Nombre	0 h.	12 h.	15 h.	18 h.	Réaction	Nombre	0 h.	12 h.	15 h.	18 h.
908												34	38.5	39.0	39.1	[illegible]
912												35	38.6	38.7	38.8	[illegible]
916												36	38.9	38.5	38.8	[illegible]
917						41	38.9	38.9	39.0	39.0	—	37	38.9	39.1	39.2	[illegible]
920						42	39.1	39.5	39.9	39.9	?	38	39.0	39.8	39.8	[illegible]
930												39	38.7	39.1	38.9	[illegible]
969												40	39.1	39.1	38.7	[illegible]

Total 37 { 5 —, 0 ?, 32 + } Total 42 { 26 —, 5 ?, 11 + } Total 40 { 31 —, 5 ?, 4 + }

Toutes les bêtes de ces deux exploitations n° 2 et 3, qui doivent pourvoir à la fourniture de viande pour une population d'environ 800 personnes, sont abattues sur place après engraissement, au fur et à mesure du besoin; dès le mois de mai 1906, nous avons commencé à pratiquer l'autopsie systématique de toutes ces bêtes. Du mois de mai jusque fin décembre 1906, nous avons ainsi autopsié 45 bêtes dont 2 seulement ont été trouvées indemnes de lésions tuberculeuses. Du 1er janvier jusqu'au 31 décembre 1907, l'autopsie a porté sur 68 sujets : chez 17 d'entre eux, nous n'avons pu découvrir aucune lésion tuberculeuse, et chez les autres nous avons constaté des lésions tuberculeuses fréquemment en régression manifeste.

Dans notre communication précédente, nous indiquions pour 48 étables comprenant 1270 têtes le résultat de la tuberculination pratiquée 6 à 8 mois après la première vaccination. Toutes ces étables ont été depuis soumises à une nouvelle tuberculination et vaccination, en moyenne après un nouveau délai de 6 à 8 mois. Les résultats de ces trois tuberculinations sont résumés dans le tableau suivant :

Nº matricule des étables	Date de T.	Nombre total	Réaction			Date de T.	Nombre total	Réaction			Date de T.	Nombre total	Réaction		
			—	?	+			—	?	+			—	?	+
2	12-05	125	14		111	11-1-07	129	63	14	52	31-12 07	128	86	10	32
3	19 1-06	37	5		32	12-1 07	42	26	5	11	30-12-07	40	31	5	4
5	10-3-06	72	16		56	28-9-06	72	38	6	28	25-10-07	72	51		21
6	1-2-06	29	4	1	24	3-10-06	28	9	1	18	25-1-08	37	23	1	13
7	6-2-06	9			9	16-10-06	5	3		2	30-10-07	14	13		1
8	1-2-06	31	5		26	31-10 06	41	13		28	25-1-08	43	20	1	22
9	7-3-06	22	8	2	12	27-9-06	22	16	1	5	22-11-07	22	13	7	2
10	29-3-06	4	4			28-12-06	4	3		1	2-8-07	16	15		1
11	29-3-06	19	8	2	9	23-1-07	34	26	2	6	9-12-07	39	35		4
12	29-3-06	28	16	3	9	20-12-06	50	34	2	14	6-12-07	48	27	4	17
13	12-4-06	40	10	2	28	24-1-07	42	17	7	18	11-10-07	41	20	4	17
14	20 4-06	16	12		4	8-12 06	16	13	1	2	14-1-08	65	58	3	4
16	12-5-06	55	36	1	18	13-10 07	58	45	3	10	2-11-07	55	48	3	4
17	12-5-06	20	6	3	11	15-10 06	21	8	4	9	4-12-07	22	41	4	4
18	16-5-06	33	22	5	6	13-10-06	18	14	2	2	13-12-07	34	33		1
19	23-5-06	22	15	1	6	24-10-06	20	8	3	9	20-12-07	53	29	11	13
21	5-6-06	42	18	7	17	18-10-06	44	8	10	26	27-12-07	47	20	4	23
22	8-6-06	18			18	1 9-1-06	19	5	1	13	24-4-07	18	8	3	7
23	7-6-06	21	7		14	6-1-07	27	6		21	12-7-07	28	12	1	15
24	4-6-06	19	6		13	7-1-07	24	15	1	8	12-7 07	23	14	2	7
25	25-5-06	20	10	1	9	17-1-07	18	12	1	5	12-7-07	19	10	3	6
26	11-6-06	45	29	3	13	31-1-07	36	27	1	8	12-2-08	21	8		13
27	11-6-06	21	14		7	21-1-07	24	16	2	6	15-2-08	19	10		9
33	16-6-06	37	18		19	26-11-06	35	11	4	20	8-7-07	32	15	3	14
37	19-6-06	17	9	2	6	7-12-06	15	11	1	3	11-2-08	14	11	1	2
51	26-6-06	26	11	4	11	4-1-07	24	10	8	6	19-6-07	22	8	2	12
53	28-6 06	28	20		8	1-2-07	25	20	1	4	3-7-07	22	17	1	4
54	28-6-06	13	2		11	1-2-07	13	5	1	7	4-7-07	12	4		8
55	28-6 06	56	24		32	21-12-06	56	31	6	19	16-7-07	52	41	5	6
60	6-6-06	23	17	1	5	24-11-06	25	19	1	5	10-6-07	28	27		1
61	7-7 06	27	9	6	12	10-11-06	25	17	3	5	10-6-07	24	20	2	2

N° matricule des étables	Date de T.	Nombre total	Réaction —	Réaction ?	Réaction +	Date de T.	Nombre total	Réaction —	Réaction ?	Réaction +	Date de T.	Nombre total	Réaction -	Réaction ?	Réaction +
106	3-8-06	15	2	4	9	31-1-07	16	3	3	10	12-7-07	16	11	2	3
112	25-6-06	42	18	6	18	9-2-07	36	16	2	18	6-8-07	34	13	3	18
116	3-8-06	19	1	11	7	2-2-07	21	10	2	9	12-7-07	19	9	1	9
122	31-7-06	26	9	5	12	7-2-07	23	13	2	8	23-7-07	29	12	5	12
123	1-8-06	9	6		3	29-1-07	11	7		4	10-7-07	10	7		3
124	28-7-06	21	16		5	31-1-07	16	11	1	4	4-7-07	20	11	1	8
132	31-7-06	13	3		10	22-1-07	12	5	4	3	10-7-07	12	5		7
133	1-8-06	21	9		12	7-2-07	22	5	3	14	23-7-07	23	10	4	9
134	31-7-06	24	21		3	25-1-07	28	24	1	3	26-6-07	26	20		6
136	1-8-06	15	4	1	10	22-1-07	15	9		6	10-7-07	13	5	1	7
137	28-7-06	13	12		1	29-1-07	15	14		1	19-6-07	14	9	1	4
139	1-8-06	15	5	2	8	29-1-07	16	10	1	5	10-7-07	14	6	2	6
176	31-8-06	19	10		9	19-12-07	22	17	1	4	9-7-07	20	16	1	3
194	10-10-06	15	4	3	8	1-2-07	13	11		2	3-7-07	14	9		5
200	11-10-06	13	8	3	2	18-1-07	11	7	3	1	2-7-07	11	9		2
201	20-10-06	10	6		4	17-1-07	10	9		1	2-7-07	12	10		2
214	23-10-06	5	2		3	22-1-07	5	2		3	10-7-07	8	5	1	2
Total des étables : 48	Total des bêtes :	1270	511	79	680		1304	722	115	467		1405	908	102	395
		Soit :	40 %	6 %	54 %			55 %	9 %	36 %			65 %	7 %	28 %

Donc, en moins d'une année et demie dans ces 48 étables, le total des bêtes à réaction négative s'est élevé de 511 à 722 et à 908, soit de 40 % à 55 % et à 65 %; celui des bêtes à réaction positive est descendu de 680 à 467 et à 395, soit de 54 % à 36 % et 28 %.

Outre ces 48 étables, nous avions encore, en 1906, tuberculiné et vacciné 271 étables qui ont été retuberculinées et revaccinées durant l'année 1907. Voici le résultat global de ces 48 + 271 = 319 étables.

Nº matricule des étables	Date de T.	Nombre total	Réaction			Date de T.	Nombre total	Réaction		
			—	?	+			—	?	+
2	-12-05	125	14		111	31-12-07	128	86	10	32
3	19-1-06	37	5		32	30-12-07	40	31	5	4
5	-12-06	333	223	13	97	-10-07	289	243	4	42
6	1-2-06	29	4	1	24	25-1-08	37	23	1	13
7	6-2-06	9			9	30-10-07	14	13		1
8	1-2-06	31	5		26	25-1-08	43	20	1	22
9	7-3-06	22	8	2	12	22-6-07	22	13	7	2
10	28-12-06	4	4			2-8-07	16	15		1
11	29-3-06	29	14	2	13	9-12-07	39	35		4
12	28-3-06	33	20		13	6-12-07	48	27	4	17
13	12-4-06	40	10	2	28	11-10-07	41	20	4	17
14	20-4-06	45	25	9	11	14-1-08	65	58	3	4
16	12-5-06	55	36	1	18	9-11-07	56	51	3	2
17	12-5-06	20	6	3	11	4-12-07	24	14	5	5
18	18-5-06	33	22	5	6	13-12-07	39	35	3	1
19	24-10-06	54	30	3	21	20-12-07	53	29	11	13
20	30-5-06	18	12		6	21-11-07	29	23	3	3
21	5-6-06	42	18	7	17	27-12-07	47	20	4	23
22	8-6-06	18			18	24-4-07	18	8	3	7
23	28-5-06	21	7		14	12-7-07	28	12	1	15
24	4-6-06	19	6		13	12-7-07	23	14	2	7
25	25-5-06	20	10	1	9	12-7-07	19	10	3	6
26	15-6-06	45	29	3	13	12-2-08	21	8		13
27	11-6-06	21	14		7	15-2-08	19	10		9
28	5-6-06	37	17	1	19	11-11-07	40	28		12
30	11-6-06	30	23		7	28-1-08	29	11	3	15
31	11-6-06	30	14		16	28-1-08	27	18	2	7
32	16-6-06	48	23		25	3-5-07	35	19	4	12
33	16-6-06	37	19		18	8-7-07	32	15	3	14
34	18-6-06	14	3	2	9	11-2-08	18	6		12
35	6-4-06	28	9		19	25-3-07	22	13	2	7

Nº matricule des étables	Date de T.	Nombre total	Réaction			Date de T.	Nombre total	Réaction		
			—	?	+			—	?	+
36	18-6-06	13	1	2	10	18-6-07	16	7	1	8
37	19-6-06	17	9	2	6	11-2-08	14	11	1	2
39	24-6-06	16	7	1	8	6 1 07	16	7	2	7
40	16-6-06	32	18	2	12	20-1-08	30	25	2	3
41	16-6-06	24	10	1	13	21-1-08	20	14	3	3
42	18-6-06	41	31	2	8	20-1-08	37	32	3	2
43	27-6-06	22	8		14	19-3-07	29	10	8	11
44	25-6-06	19	16	1	2	15-3-07	27	17		
45	22-6-06	31	11		20	30-12-07	24	14	3	7
46	23-6-06	18	7		11	10-11-07	22	16	2	4
47	23-6-06	30	21		9	12-11-07	29	26		3
48	2-7-06	37	23		14	30-4 07	30	24	1	5
49	2-7-06	29	19		10	27-11-07	30	24	6	
50	26-6-06	31	19		12	21-7-07	29	18	1	10
51	26-6-06	26	11	4	11	19-6-07	22	8	2	12
52	23-6-06	26	18		8	29-3-07	27	16	3	8
53	28-6-06	28	20		8	3-7-07	22	17	1	4
54	28-6-06	13	2		11	4-7-07	12	4		8
55	28-6-06	56	24		32	16-7-07	52	41	5	6
56	28-6-06	60	38	9	13	22-3-07	52	35	6	11
57	29-6-06	13	6	2	5	19-3-07	11	6		5
58	28-6-06	20	3	2	15	23-1-08	21	2	6	13
59	27-6-06	52	18		34	18-12-07	48	12	14	22
60	11-7-06	23	17	1	5	10-6-07	28	27		1
61	6-7-06	27	9	6	12	10-6 07	24	20	2	2
62	7-7-06	35	11		24	18-11-07	33	20	3	10
63	9-7-06	16	7		9	7-8-07	17	15		2
64	10-7-06	28	22		6	7-12-07	19	15	1	3
65	9-7-06	6	4		2	29-4-07	7	5	1	1
66	12-7-06	35	17	5	13	7-5-07	34	26	2	6
67	16-7-06	24	19		5	19-7-07	22	20	1	1

Nº matricule des étables	Date de T.	Nombre total	Réaction			Date de T.	Nombre total	Réaction		
			—	?	+			—	?	+
68	5-7-06	19	7	4	8	26-12-07	19	13	2	4
69	7-8-06	7			7	8-7-07	9	8	1	
70	3-8-06	20	13	1	6	24-7-07	23	14	1	8
71	6-7-06	39	14	7	18	23-11-07	33	22	5	6
72	20-7-06	23	22		1	11-6-07	20	20		
73	25-7-06	31	15		16	21-10-07	23	9	2	12
75	23-7-06	22	14		8	30-7-07	23	18		5
76	28-7-06	7	4		3	11-6-07	7		2	5
77	26-7-06	7	2	1	4	11-6-07	8	5	1	2
78	23-7-06	25	11	2	12	11-6-07	20	11	2	7
79	26-7-06	12	6	1	5	11-6-07	10	8	1	1
80	25-7-06	18	7	1	10	11-10-07	18	17		1
81	24-7-06	4			4	13-12-07	4	3		1
82	25-7-06	4	2	1	1	24-5-07	4	4		
83	25-7-06	6	5		1	24-5-07	4	3	1	
84	25-7-06	30	10	1	19	11-12-07	27	10	7	10
85	25-7-06	3			3	13-12-07	5	3	2	
86	25-7-06	10	4	1	5	24-5-07	7		1	6
87	27-7-06	27	8	5	14	26-12-07	29	17	2	10
88	30-7-06	10	5		5	26-12-07	11	4	3	4
89	23-7-06	11	3		8	22-1-08	10	4	4	2
90	10-7-06	17	13		4	23-11-07	16	14	2	
91	10-7-06	33	20		13	28-5-07	20	9	3	8
92	9-7-06	18	9		9	20-3-07	14	9		5
93	7-7-06	31	21	2	8	6-11-07	33	22	2	9
94	26-7-06	9	5		4	15-5-07	10	8	1	1
95	21-7-06	18	11		7	-11-07	18	14	1	3
96	21-7-06	22	10		12	-11-07	22	17	1	4
97	23-7-06	12	7	2	3	4-12-07	14	13		1
98	23-7-06	27	20		7	14-12-07	24	17	2	5
99	23-7-06	22	7		15	14-12-07	21	9	2	10

Nº matricule des étables	Date de T.	Nombre total	Réaction			Date de T.	Nombre total	Réaction		
			—	?	+			—	?	+
100	21-7-06	30	25		5	15-11-07	27	18	3	6
101	27-7-06	26	9		17	30-11-07	23	10	5	8
102	27-7-06	13	11		2	9-12-07	10	9		1
103	27-7-06	11	6		5	27-11-07	9	4		5
104	1-8-06	25	9		16	25-9-07	32	29		3
105	4-7-06	31	5	5	21	11-9-07	37	16	2	19
106	3-8-06	15	2	4	9	12 7-07	16	11	2	3
107	3-8-06	34	27	3	4	12-7-07	36	31	2	3
108	3-8-06	26	4	6	16	20-7-07	25	18	3	4
109	25-7-06	28	13	1	14	12-7-07	30	17	1	12
110	21-7-06	24	17	2	5	12-7-07	22	13	2	7
111	27-7-06	1	1			10-7-07	1	1		
112	25-7-06	42	18	6	18	6-8 07	34	13	3	18
113	25-7-06	22	8		14	12-7-07	22	13	1	8
114	19-7-06	24	20		4	12-7-07	23	19	2	2
115	31-7-06	37	14	4	19	12-7-07	36	18	5	13
116	2-8-06	19	1	11	7	12-7-07	19	9	1	9
117	27-7-06	29	9	3	17	8-7-07	30	20	1	9
118	26-7-06	19	6		13	13-9-07	14	7		7
119	28-7-06	9	5	2	2	11-9-07	9	9		
120	4-8-06	20	17	1	2	29 7-07	33	30	1	2
121	3-8-06	14	4	5	5	29-1-08	13	9		4
122	31-7-06	26	9	5	12	23-7-07	29	12	5	12
123	4-8-06	9	6		3	10-7-07	10	7		3
124	28-7-06	21	16		5	4-7-07	20	11	1	8
125	3-8-06	23	17	1	5	3-5-07	20	9	4	7
126	30-7-06	21	12		9	18-7-07	22	16	2	4
127	30-7-06	21	9	1	11	18-7-07	21	12	3	6
128	30-7-06	19	16	1	2	21-6-07	18	7	2	9
129	2 8-06	30	29		1	11-5-07	30	30		
130	2-8-06	17	8	2	7	22-11-07	16	11	1	4

No matricule des étables	Date de T.	Nombre total	Réaction			Date de T.	Nombre total	Réaction		
			—	?	+			—	?	+
131	28-7-06	14	7		7	25-7-07	13	6	2	5
132	31-7-06	13	3		10	10-7-07	12	5		7
133	1-8-09	21	9		12	23-7-07	23	10	4	9
134	31-7-06	24	21		3	21-7-07	26	20		6
135	30-7-06	17	11	4	2	25-7-07	12	10	1	1
136	1-8-06	15	4	1	10	10-7-07	13	5	1	7
137	28-7-06	13	12		1	19-6-07	14	9	1	4
138	2-8-06	21	6	2	13	4-11-07	16	5	1	10
139	1-8-06	15	5	2	8	10-7-07	14	6	2	6
140	25-7-06	14	6	1	7	28-12-07	14	5	4	5
141	25-7-06	11	8		3	28-12-07	6	5	1	
142	31-7-06	23	8	2	13	27-12-07	25	20	2	3
143	2-8-06	9	8		1	28-12-07	7	6		1
144	31-7-06	24	6	2	16	27-12-07	25	10	4	11
145	6-8-06	20	4	1	15	30-7-07	17	5		12
146	9-8-06	22	14	2	6	6-8-07	26	20	3	3
147	6-8-06	10	2	1	7	6-8-07	14	10	3	1
148	7-8-06	29	1	3	25	7-10-07	36	5	5	26
149	7-8-06	18	3	2	13	30-10-07	11	3	1	7
150	16-8-06	29	13	6	10	5-11-07	24	8	7	9
151	1-5-06	42	37	1	4	26-12-07	50	48	2	
152	16-5-07	18	12		6	20-10-07	21	18		3
153	18-8-06	10	2		8	6-11-07	13	3		10
154	10-8-06	34	7	5	22	14-10-07	31	11	11	9
155	10-8-06	21	10	1	10	14-1-08	18	10		8
156	27-6-06	18	1	1	16	4-11-07	20	4	3	13
157	6-6-06	20	4	2	14	3-2-08	19	5	3	11
158	21-8-06	21	9	7	5	5-2-08	22	14	2	6
159	21-8-06	36	8	4	24	16-10-07	41	22	7	12
160	3-9-06	36	20		16	30-1-08	35	22	7	6
161	1-9-06	19	11	1	7	18-12-07	15	11	2	2

Nº matricule des étables	Date de T.	Nombre total	Réaction			Date de T.	Nombre total	Réaction		
			—	?	+			—	?	+
162	4-9-06	18	8		10	2-7-07	20	15		5
164	4-9-06	22	2	1	19	21-1-08	27	8	4	15
165	20-8-06	30	8	16	6	24-1-08	28	23	2	3
166	3-9-06	10	6		4	19-8-07	9	8		1
167	16-8-06	21	15	2	4	24-7-07	10	9		1
168	30-8-06	10	1	3	6	8-11-07	11	4		7
170	7-8-06	11	6		5	10-5-07	9	8	1	
171	10-8-06	7	5		2	5-10-07	8	4	2	2
172	30-8-06	13	11		2	5-12-07	10	5	3	2
173	8-9-06	40	22	2	16	25-1-08	33	5	7	21
174	8-9-06	21	9		12	20-11-07	22	17	1	4
175	31-8-06	8	5	2	1	9-7-07	8	8		
176	31-8-06	19	10		9	9-7-07	20	16	1	3
177	31-8-06	10	3		7	9-7-07	11	6	1	4
178	21-8-06	32	19		13	29-11-07	33	21	1	11
179	3-8-06	33	26		7	14-6-07	40	33	1	6
180	17-8-06	79	31	12	36	25-6-07	85	54	7	24
181	28-9-06	32	10	1	21	6-12-07	26	15	2	9
182	1-10-06	14		2	12	5-12-07	14	8	1	5
183	2-8-06	14	4	2	8	12-4-07	15	10		5
184	18-9-06	21	4		17	20-2-07	22	4	5	13
185	3-10-06	27	9	1	17	28-10-07	28	10	2	16
186	4-10-06	11	1	3	7	29-10-07	10	5		5
187	2-10-06	37	10	4	23	29-10-07	27	15	6	6
188	2-10-06	5	1		4	29-10-07	4	1	1	2
189	6-10-06	3	1	1	1	29-10-07	3	1		2
190	1-10-06	9		1	8	30-10-07	8	2	1	5
191	20-8-06	48	36	1	11	25-10-07	51	35	6	10
192	2-10-06	12	8	1	3	17-7-07	13	11	1	1
193	16-10-06	25	18		7	17-7-07	30	22	2	6
194	20-10-06	15	4	3	8	3-7-07	14	9		5

N° matricule des étables	Date de T.	Nombre total	Réaction			Date de T.	Nombre total	Réaction		
			—	?	+			—	?	+
195	11-9-06	22	7	2	13	22-8-07	22	16	1	5
196	15-10-06	20	13		7	6-8-07	18	13	1	4
197	15-10-06	15	1	1	13	31-7-07	14	9		5
198	15-10-06	7	3	1	3	31-7-07	7	3	1	3
199	15-10-06	18	7		11	6-8-07	21	13	4	4
200	11-10-06	13	8	3	2	2-7-07	11	9		2
201	11-10-06	10	6		4	2-7-07	12	10		2
202	11-10-06	5	1		4	7-11-07	6	3		3
203	4-9-06	19	5	2	12	22-10-07	22	11	2	9
206	18-8-06	11	7		4	25-12-07	9	8	1	
207	15-10-06	34	15	2	17	14-10-07	30	20	3	7
208	16-10-06	36	23	2	11	21-1-08	27	18	6	3
209	18-10-06	16	3		13	6-11-07	21	10	1	10
210	18-10-06	26	24	1	1	16 4-07	37	36		1
211	23-10-06	21	5	2	14	19-7-07	24	15	3	6
212	19-10-06	6	2		4	18-7-07	7	4	2	1
213	20-8-06	6	4		2	2-7-07	6	5		1
214	23-10-06	5	2		3	10-7-07	8	5	1	2
215	24-8-06	19	9	1	9	16-12-07	33	18	5	10
216	4-10 06	21	4	3	14	16-10-07	26	12	1	13
217	22-10-06	22	9	2	11	18-10-07	24	13	3	8
218	5-10-06	17	10	2	5	6-10-07	19	15	2	2
219	19-10-06	25	8	2	15	3-12 07	27	14		13
220	26-8-06	27	17	2	8	3-12-07	25	15	1	9
221	17-9-06	50	26	5	19	5-12-07	51	37	8	6
222	17-10-06	19	4	1	14	11-10-07	16	8	2	6
223	29-10-06	18	6		12	10-10-07	20	12	1	7
224	1-10 06	29	14	3	12	30-10-07	31	15	3	13
225	12-10-06	21	3	4	14	29-10-07	24	11	2	11
226	26-10-06	12	2	3	7	7-6-07	13	3	1	9
227	28-10-06	11	2	1	8	6-3-07	8	2	1	5

N° matricule des étables	Date de T.	Nombre total	Réaction			Date de T.	Nombre total	Réaction		
			—	?	+			—	?	+
228	22-10-06	5	1		4	4-12-07	7	2	1	4
229	30-10-06	14	4	1	9	6-6-07	17	9	1	7
230	20-10-06	25	14	1	10	27-6-07	24	11	3	10
231	27-10-06	9	8		1	12-6-07	11	10	1	
232	18-10-06	13	5		8	27-6-07	13	4		9
233	26-10-06	25	9		16	24-16-07	25	19	2	4
234	26-10-06	22	18		4	30-10-07	26	22	2	2
235	30-10-06	60	27	4	29	20-12-07	61	37	3	21
236	28-10-06	21	15		6	23-10-07	19	19		
237	27-10-06	16	14		2	7-11-07	18	17		1
238	5-11-06	39	15	3	21	20-11-07	37	27	3	7
239	29-10-06	23	21		2	7-11-07	18	15		3
240	17-8-06	12	9		3	7-6-07	11	7	2	2
241	23-10-06	30	3	16	11	16-1-08	29	13	3	13
242	2-6-03	13	1	4	8	10-11-07	15	11	2	2
243	10-11-06	15	10	1	4	11-6-07	13	9	2	2
244	10-11-06	11	10		1	11-6-07	8	7		1
245	10-11-06	13	9		4	11-6-07	13	5	1	7
246	22-11-06	11	5	2	4	30-7-07	12	5	2	5
247	2-11-06	20	2	6	12	11-6-07	23	15	2	6
249	10-11-06	5	4	1		24-1-08	6	5	1	
250	27-10-06	19	5	2	12	24-1-08	23	11	3	9
251	1-11-06	17	2		15	19-12-07	18	10		8
252	15-9-06	21	10	1	10	20-12-07	18	11		7
253	8-11-06	5	4		1	22-1-08	5	4		1
254	14-8-06	27	19	2	6	21-12-07	24	14	1	9
255	1-10-06	20	18		2	14-5-07	28	26	2	
256	9-10-06	14	6		8	6-12-07	15	13		2
257	10-11-06	4	1		3	19-10-07	3		2	1
258	7-11-06	27	5		22	8-11-07	28	23	1	4
259	19-11-06	16	8		8	8-11-07	15	9	3	3

N° matricule des étables	Date de T.	Nombre total	Réaction			Date de T	Nombre total	Réaction		
			−	?	+			−	?	+
260	8-11-0	4	3		1	24-10-07	5	4		1
262	4-11-06	6	6			19-11-07	4	4		
263	14-11-06	10	6		4	19-11-07	9	8	1	
264	10-11-06	11	8		3	22-10-07	12	10	1	1
265	12-11-06	9	9			22-10-07	10	9		1
266	12-11-06	11	4		7	22-10-07	11	9	2	
267	9-11-06	13	5		8	11-11-07	12	11		1
268	19-11-06	12	12			11-11-07	10	10		
269	13-11-06	28	16		12	22-11-07	16	9	3	4
270	12-11-06	9	8		1	22-11-07	7	7		
271	16-11-06	33	12		21	27-10-07	41	35	4	2
272	4-11-06	10	4		6	5-11-07	10	8	2	
273	15-11-06	56	20	4	32	8-8-07	55	35	6	14
274	20-11-06	16	3		13	6-12-07	15	6	3	6
276	12-11-06	13	9	1	3	22-1-08	18	12	2	4
277	6-11-06	11	5		6	14-1-08	13	11		2
278	24-8-06	12	8		4	13-1-08	10	3	1	6
279	24-10-06	42	20	3	19	5-12-07	39	7	5	27
280	23-10-06	32	16	3	13	27-1-08	27	13	3	11
281	7-11-06	24	12	1	11	23-1-08	25	11	1	13
282	2-11-06	10	3	2	5	21-2-08	7	3		4
283	10-11-06	7	1	1	5	10-6-07	6	3	1	2
285	31-10-06	21	5	2	14	11-1-08	22	12	2	8
286	2-11-06	27	8	1	18	20-1-08	29	17	5	7
287	29-10-06	22	7	2	13	25-7-07	17	7		10
288	28-10-06	25	20		5	15-6-07	19	19		
289	26-10-06	27	16	2	9	15-6-07	27	22	2	3
292	12-11-06	3	2		1	21-10-07	3	2		1
293	19-11-06	42	24	1	17	23-1-08	43	32	2	9
294	14-11-06	23	15		8	28-12-07	22	17		5
295	14-10-06	12		1	11	29-1-08	14	10	2	2

N° matricule des étables	Date de T.	Nombre total	Réaction			Date de T.	Nombre total	Réaction		
			—	?	+			—	?	+
296	21-11-06	10	6		4	23-10-07	9	6		3
298	23-11-06	3	2		1	21-10-07	2	2		
299	23-11-06	13	2		11	21-10-07	18	10	3	5
300	21-11-06	7	6		1	5-11-07	6	3	1	2
302	21-11-06	7	7			5-11-07	8	8		
303	6-11-06	36	31		5	18-11-07	38	33	1	4
305	22-11-06	16	16			15-11-07	15	15		
306	24-11-06	5	3		2	4-11-07	6	4		2
307	24-11-06	11	11			27-11-07	8	1	6	1
308	29-11-06	12	11		1	13-11-07	10	8		2
309	29-11-06	17	14		3	13-11-07	13	11		2
310	26-11-06	9	9			29-10-07	8	7	1	
311	26-11-06	4	4			29-10-07	7	7		
312	23-11-06	12	8		4	28-10-07	12	10	1	1
313	25-11-06	9	9			28-10-07	8	8		
314	23-11-06	14	8		6	28-10-07	12	11		1
315	28-11-06	9	6		3	20-11-07	10	8	2	
317	27-11-06	4	1		3	15-11-07	3	3		
318	30-11-06	6	6			30-10-07	5	5		
319	30-11-06	21	21			4-11-07	23	22	1	
320	30-11-06	22	19		3	4-11-07	23	20	2	1
321	24-11-06	22	21		1	4-11-07	18	15	1	2
322	25-11-06	4	4			14-11-07	5	5		
323	7-11-06	8	2		6	13-1-08	10	8		2
324	11-11-06	9	2		7	24-1-08	9	8	1	
325	13-11-06	4	2		2	26-1-08	4	1	1	2
326	14-11-06	28	9		19	17-12-07	26	13	5	8
327	13-11-06	18	2	1	15	15-12-07	16	6	1	9
328	16-11-06	12	4		8	21-6-07	16	7		9
329	9-11-06	15	4	1	10	20-1-08	11	2	4	5
330	5-11-06	18	3	2	13	17-1-08	19	4	3	12

No matricule des étables	Date de T.	Nombre total	Réaction			Date de T.	Nombre total	Réaction		
			—	?	+			—	?	+
332	6-12-06	11	6		5	23-12-07	8	4		4
334	14-12-06	36	19	3	14	28-11-07	42	29	1	12
335	7-11-06	12			12	13-12-07	11	3	2	6
336	15-12-06	8	4	1	3	23-12-07	7	6		1
337	18-12-06	23	7	3	13	20-8-07	32	22	4	6
338	25-11-06	26	6	3	17	22-1 08	31	12	5	14
339	20-12-06	19	11	3	5	19-1-08	18	9	2	7
340	9-11-06	32	11	2	19	20-11-07	26	18	2	6
345	8-11-06	29	16	1	12	28-11-07	26	15	1	10
Total des étables : 319	Total du bétail :	7014	3421	429	3164		6969	4487	609	1873
		Soit :	49 o/o	6 o/o	45 o/o			65 o/o	8 o/o	27 o/o

Donc, sur un total de bêtes presque identique, soit 7014 contre 6969 lors de la retuberculination, le total des réactions négatives est monté de 3421 à 4487 soit de 49 o/o à 65 o/o, et le total des réactions positives est descendu de 3164 à 1873 soit de 45 o/o à 27 o/o.

Afin de mieux faire ressortir la signification des résultats de la retuberculination et par conséquent de la vaccination, nous avons décomposé les résultats de la seconde tuberculination pour toutes les étables tuberculinées et vaccinées, une première fois en 1906 et une seconde fois en 1907 par Monsieur De Caestecker, un des inspecteurs vétérinaires les plus consciencieux et aussi des plus compétents dans cette question, et voici le résultat auquel on arrive :

N° matricule des étables	Date de T¹	Total	Réaction −	Réaction ?	Réaction +	Date de T²	Total	Réaction −	Réaction ?	Réaction +	Total de T¹ +	Réaction −	Réaction ?	Réaction +	Total de T¹ ?	Réaction −	Réaction ?	Réaction +	Total de T¹ −	Réaction −	Réaction ?	Réaction +	Total de N	Réaction −	Réaction ?
10	14-3-06	4	4			23-1-07	4	3		1									4	3		1			
11	29-3-06	19	8	2	9	23-1-07	34	26	2	6	7	2		5	1			1	9	8	1		17	16	1
12	29-3-06	28	16	3	9	20-12-06	50	34	2	14	8	3	1	4	3	2		1	14	9	1	4	25	20	
26	11-6-06	45	29	3	13	31-1-07	36	27	1	8	11	2	1	8	1	1			24	24					
27	11-6-06	21	14		7	21-1-07	24	16	2	6	7	1	1	5					11	11			6	4	1
28	5 6 06	37	17	1	19	11-11-07	40	28		12	9	3		6					10	5		5	21	20	
34	18-6 06	14	3		11	11-2-07	18	6		12	8			8					1			1	9	6	
35	6-4-06	28	8	1	19	13-3 07	22	13	2	7	15	1	1	3	1			1	6	5	1		10	7	
36	18 6-06	13	1	2	10	18 6-07	16	7	1	8	7		1	6					1			1	8	7	
37	19 6-06	17	9	2	6	7-12-07	15	11	1	3	6	2	1	3	1	1			8	8					
39	24-6-06	16	8		8	6 1-07	16	7	2	7	8		1	7	1				7	6	1				
43	27 6-06	22	8		14	19-3-07	29	10	8	11	12	2	5	5					5	5			12	3	3
44	25-6 06	19	16	1	2	15-3-07	17	17											10	10			6	6	
56	28-6-06	60	38	9	13	22-3-07	52	35	6	11	7	2		5	9	6	2	1	22	18	1	3	14	9	3
57	20 6-06	13	6	2	5	19-3 07	11	6		5	4			4	1			1	5	5			1	1	
104	1-8-06	25	9		16	25-9-07	32	29		3	1			1									31	29	
105	4-7-06	31	5	5	21	11-9-07	37	16	2	19	12		2	10					3	1		2	22	15	
145	6-8-06	20	4	1	15	30-7-07	17	5		12	7			7	1			1	3	1		2	6	4	
146	9-8-06	22	14	2	6	6-8-07	26	20	2	4	5	2	1	2					11	9	1	1	10	9	
147	6-8 06	10	2	1	7	6 8-07	14	10	3	1	3		2	1	1		1						10	10	
153	18-8-06	10	2		8	6-11-07	13	3		10	7			7					2			2	4	3	
154	10-8-06	34	7	5	22	14-10-07	31	11	11	9	14	5	3	6	3		3		5	5			9	1	5
155	10 8-06	21	10	1	10	14-1-08	18	10		8	3			3					3			3	12	10	
156	27-6-06	18	1	1	16	4-11-07	20	4		16	11	1		10	1	1			1			1	7	2	
157	6 6 06	20	4	2	14	3-2-08	19	5	3	11	1	1							1		1		17	4	2
158	21-8-06	21	9	7	5	5-2-08	22	15	2	5	4		1	3	7	5	1	1	3	3			8	7	
159	21-8 06	36	8	4	24	16-10-07	41	22	7	12	12	5	2	5	2	1		1	3	3			24	13	5
160	3-9-06	36	20		16	30 1-08	35	22	7	6	5		2	3					11	7	1	3	19	15	4
161	1-9 06	19	11	1	7	18-12 07	15	11	2	2	5	2	2	1	1			1	3	3			6	6	
162	4-9-06	18	8		10	2-7-07	20	15		5	6	4		2					6	4		2	8	7	
164	4-9-06	22	2	1	19	21-1-08	27	8	4	15	9	1	2	6					2	2			16	5	2
165	20-8-06	30	8	16	6	24-1-08	28	13	7	3	4	1	2	1	8	4	3	1	3	2	1		13	11	1

N° matricule des étables	Date de T¹	Total	Réaction —	Réaction ?	Réaction +	Date de T²	Total	Réaction —	Réaction ?	Réaction +	Total de T¹ +	Réaction —	Réaction ?	Réaction +	Total de T¹ ?	Réaction —	Réaction ?	Réaction +	Total de T¹ —	Réaction —	Réaction ?	Réaction +	Total de N	Réaction —	Réaction ?	Réaction +
175	8-9-06	40	22	2	16	30-11-07	20	5	1	14	8	2	1	5	1	1			11	2		9				
207	15-10-06	34	15	2	17	14-10-07	30	20	3	7	10	4	2	4	2	1		1	12	9	1	2	6	6		
208	16-10-06	36	23	2	11	21-1-08	27	18	6	3	5	1	3	1	1	1			13	10	1	2	8	6	2	
209	18-10-06	16	3		13	6-11-07	22	11	1	10	11	3	1	7					4	2		2	7	6		1
222	17-10-06	19	4	1	14	11-10-07	16	8	2	6	8	3		5					1	1			7	4	2	1
223	29-10-06	18	6		12	10-10-07	20	12	1	7	11	4	1	6					2	2			7	6		1
235	30-10-06	60	27	4	29	20-12-07	61	35	3	23	19		1	18	3		1	2	17	15	1	1	22	20		2
280	23-10-06	32	16	3	13	27-1-08	27	13	3	11	11	1	3	7	2	1		1	12	10		2	2	1		1
281	7-11-66	24	12	1	11	23-1-08	25	11	1	13	1			1					6	1		5	18	10	1	7
282	3-11-06	10	3	2	5	21-2-08	7	3		4	2	2							1			1	4	1		3
294	14-11-06	23	15		8	28-12-07	22	17		5	5	1		4					8	7		1	9	9		
326	14-11-06	28	9		19	17-12-07	26	13	5	8	14	3	4	7					9	7	1	1	3	3		
327	13-12-06	18	2	1	15	15-12-07	16	6	1	9	10		1	9					2	2			4	4		
334	14-12-06	36	19	3	14	28-11-07	42	29	1	12	10	2	1	7	2	1		1	13	9		4	17	17		
335	7-11-06	12			12	13-12-07	11	3	2	6	8	1	2	5									3	2		1
337	18-12-06	23	7	3	13	20-8-07	31	21	3	7	9	3	2	4	2			2	6	6			14	12	1	1
338	15-11-06	26	6	3	17	22-1-08	31	12	5	14	8	1	2	5	2	1	1		5	4		1	16	6	2	8
339	20-12-06	19	11	3	5	19-1-08	18	9	2	7	3	1	1	1	2			2	6	4		2	7	4	1	2
50	Total du bétail :	1223	509	103	611		1251	716	117	418	361	72	56	233	60	29	12	19	325	248	13	64	505	367	36	102
		Soit : 42 - 8 - 50 °/o					58 - 9 - 33 °/o				20 - 15 - 65 °/o				50 - 20 - 30 °/o				76 - 4 - 20 °/o				73 - 7 - 20 °/o			

Soit d'abord, au total une augmentation des bêtes à réaction négative de 509 à 716 ou de 42 °/o à 58 °/o, et une diminution des bêtes à réaction positive de 611 à 418 ou de 50 °/o à 33 °/o.

Comme l'indique la moitié droite du tableau ci-dessus, les 1251 bêtes formant le total de ces 50 étables lors de la seconde tuberculination, peuvent, par rapport à la première tuberculination, être classées en quatre catégories : 1° des bêtes ayant déjà réagi positivement (T¹ +), 2° des bêtes à première réaction douteuse (T¹ ?), 3° des bêtes n'ayant pas réagi précédemment (T¹ —), 4° des bêtes introduites depuis la première tuberculination (bêtes nouvelles = N).

Nous voyons ainsi que, des 611 bêtes à réaction positive lors de la première tuberculination, 361 étaient encore dans ces étables lors de la seconde tuberculination et que ces 361 bêtes se décomposent en 72 réac-

tions négatives soit 20 %, 56 réactions douteuses soit 15 %, et 233 réactions positives soit 65 %. Les 60 bêtes à réaction douteuse qui restent de la première tuberculination donnent 29 réactions négatives, 12 douteuses et 19 réactions positives. Des 509 bêtes à réaction négative lors de la première tuberculination, nous retrouvons dans ces mêmes exploitations lors de la seconde tuberculination 325 sujets, dont 248 sont restés négatifs, 13 sont devenus douteux et 64 sont devenus positifs, soit 76 % de réactions négatives, 4 % de réactions douteuses et 20 % de réactions positives.

Les 505 bêtes nouvelles, achetées en minime partie, en majeure partie nées dans l'exploitation même depuis la première tuberculination, ont donné 102 réactions positives, 36 réactions douteuses et 367 réactions négatives, soit 20 % de réactions positives, 7 % de réactions douteuses et 73 % de réactions négatives. Donc, ces 505 bêtes nouvelles présentent déjà le même pourcentage d'infections que les 325 bêtes vaccinées à réaction négative qui ont séjourné, au total plus d'un an et demi, et depuis la première tuberculination une année entière dans ces foyers infectieux, dans lesquels elles ont déjà passé au moins tout un hiver; par contre, les 505 bêtes nouvelles ci-dessus, déjà infectées au même degré, n'ont pas, en majeure partie, traversé la période si dangereuse de la cohabitation hivernale, n'ont séjourné dans ces mêmes étables en tout qu'une moyenne de six mois, et encore faut-il ajouter que les veaux nouveau-nés ne cohabitent pas d'ordinaire pendant plusieurs mois avec les bêtes adultes infectées. Par conséquent, le résultat de la seconde tuberculination de ces 50 étables prouve à l'évidence que les bêtes saines vaccinées s'infectent moins que les non vaccinées, à moins de prétendre, ce que personne ne fera je suppose, qu'aucune des 367 bêtes nouvelles non encore infectées ne contracterait la tuberculose pendant les six mois qui suivent(1), à moins de prétendre que les 248 bêtes saines vaccinées, qui ont donné une réaction négative lors de la seconde tuberculination, sont quand même tuberculeuses, au moins en grande partie. Or, depuis le début de nos expériences jusqu'au 31 décembre dernier, nous avons recueilli les données d'autopsie de plus de 400 bêtes vaccinées, de toutes sortes, de tout âge et appartenant aux exploitations les plus diverses. Parmi ces 400 autopsies(2), nous relevons plus de 100 bêtes appartenant à la catégorie de

(1) Pour ces bêtes nouvelles, l'infection étant de 20 % en 6 mois, si elle continue à se faire dans la même proportion, elle atteindra 40 % après un an et 80 % après 2 ans. De fait, lors de la 1re tuberculination, il y avait dans ces 50 étables une moyenne de 80 % de R + parmi les bêtes âgées d'au moins 2 ans.

(2) Dont 113 autopsies faites par moi dans l'exploitation nº 2 et 3, plus de 200 autopsies faites, d'ordinaire en ma présence, par M. Van de Walle, directeur de l'abattoir de Gand, les autres par M. l'inspecteur De Roo, par M. le vétérinaire Van Themsche, etc.

ces 248 bêtes, et à l'autopsie elles se sont montrées indemnes de toute lésion tuberculeuse, à part 5 ou 6 sujets qui présentaient des tubercules macroscopiques, car nous laissons provisoirement dormir la tuberculose dite latente jusqu'à ce qu'elle se réveille ou se révèle d'elle-même. Ce résultat d'autopsies démontre péremptoirement que les bêtes saines vaccinées qui conservent leur réaction négative ne sont pas non plus tuberculeuses et que la tuberculine chez les bêtes vaccinées, saines ou tuberculeuses, est aussi fidèle que chez les mêmes bêtes non vaccinées.

Donc, dans les 50 exploitations que Monsieur l'inspecteur De Caestecker a tuberculinées et vaccinées en 1906 et qui comptaient alors 509 bêtes saines, nous trouvons en 1907, en moyenne après un an, 248 + 367 = 615 bêtes dûment non tuberculeuses, soit une augmentation de 106 bêtes saines sur 509, soit encore plus de 20 %, tout en laissant ici de côté les bêtes à T^1 + et à T^1? qui donnent lors de T^2 une réaction négative. Au point de vue prophylactique, le statu quo a été maintenu intentionnellement dans ces étables; d'autre part, cette augmentation du nombre de bêtes saines n'est pas due exclusivement à l'élimination d'un plus grand nombre de bêtes tuberculeuses et contagieuses, car alors les infections chez les bêtes nouvelles non vaccinées ne pourraient pas avoir atteint le même pourcentage que chez les bêtes saines vaccinées, qui ont séjourné toute une année dans ces étables depuis la première tuberculination.

L'analyse comparative des inventaires des 319 étables, tuberculinées et vaccinées en 1906 puis retuberculinées et revaccinées en 1907, prouve que le même résultat global a été obtenu dans l'ensemble de ces étables et que le nombre des bêtes dûment non tuberculeuses y a augmenté dans les mêmes proportions d'environ 20 %, soit d'environ 7 à 800 têtes.

La vaccination dans ces 319 étables ayant été faite sans prendre aucune nouvelle mesure d'isolement ou de prophylaxie et l'immunisation par vaccination ne se produisant que très lentement, il va de soi que le résultat de la retuberculination et de la vaccination devait être et, de fait (cfr. tableau p. 187), est très inégal d'une étable à l'autre. Au point de vue de la rapidité et de l'intensité de la contagion, chacune de ces 319 étables doit en quelque sorte être considérée comme une unité contagieuse très fluctuante dans ses manifestations. La plupart des bêtes d'une étable donnée, qui ne réagissent pas aujourd'hui et qu'on vaccine, peuvent déjà être infectées quelques semaines plus tard, si la contagion y règne en plein ou s'il s'y produit vers cette époque une poussée infectieuse par suite de l'apparition d'une tuberculose ouverte. En outre, comme le démontrent nos infections expérimentales et nos observations dans la pratique, toutes les bêtes dûment vaccinées depuis un temps suffisamment long ne résistent pas à une infection de n'importe quelle

intensité. N'empêche, comme le démontrent les nombreux résultats déjà obtenus dans les foyers les plus contagieux, entre autres dans les exploitations n° 2 et 3, que la vaccination seule diminue rapidement et notablement l'état tuberculeux du bétail; si elle est combinée, comme la lutte rationnelle contre la tuberculose le demande, avec les mesures prophylactiques préconisées par Bang, Ostertag et d'autres, les résultats n'en deviendront que plus complets et plus durables.

Depuis plus de dix ans nous spécialisons l'étude de la tuberculose; si nous jetons toutes nos connaissances, toutes nos données d'expériences et d'observations sur le crible de la critique la plus sévère, à travers les mailles si étroites nous voyons toujours tomber assez de faits pour nous permettre de conclure à nouveau que la vaccination augmente la résistance des animaux sains, au point d'empêcher totalement l'infection ou de la rendre au moins plus bénigne, et aussi, ce que nous prouverons en détail ultérieurement, d'atténuer la tuberculose des bêtes déjà infectées.

Quelque dangereux qu'il soit de jouer au prophète dans une question aussi complexe et dépendant de tant de facteurs essentiellement variables, nous croyons pouvoir prédire que la plupart des 319 foyers tuberculeux vaccinés en 1906 seront pratiquement éteints en 1910, soit endéans 3-4 ans. Et si nous évaluons en Belgique à 60,000 le nombre d'étables importantes qui sont infectées par la tuberculose, il suffirait de centupler le nombre des vaccinations déjà faites pour qu'à bref délai le cheptel bovin belge soit pratiquement débarrassé de la tuberculose.

TRAVAIL DE L'INSTITUT DE THÉRAPEUTIQUE DE L'UNIVERSITÉ DE BRUXELLES
DIRECTEUR PROF. JACQUES.

Contribution à l'étude de la péronine

PAR

LE Dr ADRIEN LIPPENS.

Un travail récent de VINCI (1) fait ressortir l'action comparative de la morphine et de ses dérivés sur le cœur isolé de mammifère. Cet auteur est le premier qui ait poussé dans cette direction l'étude de la péronine (2). Les résultats expérimentaux de VINCI se résument aisément dans les quelques propositions suivantes :

1°/ La péronine est un poison à action énergique sur le cœur : Une solution de ce produit au titre de 1/20.000 amène l'arrêt du muscle cardiaque en 9 minutes, une dose plus forte produit un résultat semblable en quelques secondes et une concentration de 1/2.000 entraîne presque instantanément la mort du cœur.

2°/ Le cœur s'arrête toujours en systole. Cet arrêt est définitif. En effet, ni le passage d'une solution physiologique, ni l'augmentation de la pression, ni l'excitation mécanique ne rendent au cœur ses battements. Toutefois, une quelconque de ces influences peut réveiller temporairement quelques contractions cardiaques, mais à la condition expresse que l'action de la péronine ait été de très courte durée.

---

(1) G. VINCI : *Azione della morfina e di alcuni suoi derivati sul cuore isolato di mammifero.* Archives internationales de pharmacodynamie et de thérapie, t. XVII, 1907, pp. 5-64.

(2) La Péronine est un chlorhydrate de Benzylmorphine, répondant à la formule : $C^{24}H^{25}NO^{3}HCl$.

On trouvera dans le travail de Vinci la bibliographie relative à la Péronine. On peut y ajouter les deux travaux suivants : GEVAERT. *Nouveau succédané de la morphine : La Péronine.* Belgique Médicale 1899, n° 7, p 193. — GRAM. *Om Peronin* Foredray og. discuss. paa 2den nordiske Kongress for inere Med., t. 43. 1898. Hosp. Trd. 4, t. VI, 38, p. 1033, 1898. Référé in Schmidt's Jahrbucher, t. CCLX, 1898, p. 126.

3°/ La péronine diminue le nombre et l'énergie des battements du cœur, et provoque une grande irrégularité dans le travail du muscle cardiaque.

J'ai cru utile de compléter les constatations faites par VINCI en étudiant l'action de la péronine sur le cœur d'un animal à sang froid. Deux sortes d'expériences ont été entreprises, portant respectivement sur le cœur *in situ* et sur le cœur isolé. Dans l'un et l'autre cas, c'est la tortue qui a servi de sujet d'expérimentation.

1° Action de la péronine sur le cœur in situ.

On prend une tortue dont on détruit la moelle et que l'on maintient immobile sur le dos dans un appareil à contention (1). On la débarrasse de son plastron, on ouvre le péricarde et on ligature le petit vaisseau qui unit la pointe du cœur à la séreuse. Cela fait, on accroche la pointe du cœur au moyen de l'hameçon de l'appareil d'ENGELMANN (2), dont le stylet inscrit sur un papier fumé le tracé de la contraction cardiaque.

L'action de la péronine sur un cœur de tortue ainsi préparé a été envisagée tantôt en introduisant le produit directement dans la circulation, tantôt en faisant baigner le cœur dans une solution du poison, introduite dans le sac péricardique.

La solution de péronine est faite au moyen du liquide de Ringer.

Expérience I

Tortue adulte préparée et mise à l'appareil d'Engelmann. Une solution de péronine 1 °/₀₀₀ baigne le cœur; elle est renouvelée de temps à autre.

Temps.	Nombre de battements à la minute.	Amplitude des battements en millimètres	Observations.
9,50	28	50	Normal. Cœur régulier, égal.
10,04	—	—	La Péronine est mise au contact du cœur.
10,05	20	50	Battements égaux, réguliers.
10,07	12	43	Battements réguliers. Systole brusque. Diastole nettement divisée en 2 temps : un 1er rapide, un 2d lent.
10,11	10	35	La systole est plus lente, le cœur moins régulier.
10,15	9	24	Systole lente. Battements moins réguliers.

(1) E. ZUNZ : *Un appareil à contention pour tortues.* Bulletin de la Société Royale des sciences médicales et naturelles de Bruxelles, 1907, t. LXV, pp. 152-155.

(2) R. HEINZ : Handbuch der experimentellen Pathologie und Pharmakologie, t. I, 2de moitié. Jena 1905, p. 820.

Temps.	Nombre de battements à la minute.	Amplitude des battements en millimètres.	Observations.
10,32	12	17	Systole lente. Battements moins réguliers.
10,53	10	11	Plateau systolique.
11,23	6	6	Diastole très longue, pause diastolique.
11,52	6	6	Idem.
14,10	2	8	Battements réguliers.
14,45	–	–	Mort en *systole*.

La péronine a eu une action retardatrice manifeste sur le nombre des battements cardiaques; elle a altéré moins rapidement l'amplitude des contractions et a produit pendant longtemps un travail cardiaque irrégulier

La mort du cœur qui s'est produite en systole, n'est survenue qu'après 4 h. 41 minutes.

Expérience II.

Tortue adulte; le cœur est soumis à l'action de la péronine, par injection intraveineuse de un ct^{m3} de ce produit en solution à 1 °/₀₀.

Temps.	Nombre de battements à la minute.	Amplitude des battements en millimètres.	Observations.
15,05	28	45	Normal. Battements réguliers et égaux.
15,11	—	—	Introd. 1 ct^3 sol. Péronine 1 °/₀₀ d^s veine.
15,12	20	47	Battements réguliers en nombre, irréguliers en amplitude.
15,39	14	34	Battements irréguliers.
15,55	13	11	Idem.
16,04	10	3	Ondulations régulières.
16,16	—	—	Mort en *systole*.

La péronine en injection intraveineuse s'est montrée beaucoup plus active sur le cœur de tortue. Indépendamment de l'action légèrement excitante que la péronine a eue sur l'amplitude cardiaque, elle a provoqué des phénomènes identiques à ceux relatés dans l'expérience I. Après une heure 5 minutes, le cœur meurt en systole.

Expérience III.

Tortue adulte. Péronine 1 °/oo mise en contact extérieur avec le cœur.

Temps.	Nombre de battements à la minute.	Amplitude des battements en millimètres.	Observations.
14,15	32	33	Normal. Battements réguliers. Pause systolique.
14,19	—	—	La péronine est administrée.
—	32	28	Un peu moins réguliers.
14,20	28	25	Idem.
14,28	20	20	Nettement irréguliers. Diastole divisée en 2 temps, le premier bref, le second lent.
14,45	18	12	Idem.
15,00	8	4	Diastole très longue, irrégularité persiste
15,15	10	3	Idem.
15,32	6	2	Régulier.
16,12	—	—	Mort en *systole*.

Dans cette expérience, semblable à la première, la nocivité de la péronine sur le cœur s'est manifestée plus rapidement et plus énergiquement. Les symptômes d'intoxication ont été les mêmes. Le cœur s'est arrêté en systole au bout de une heure 53 minutes.

Expérience IV

Tortue adulte Injection dans une veine de 1 1/2 ctm³ d'une solution de Péronine à 1 °/oo.

Temps.	Nombre de battements à la minute.	Amplitude des battements à la minute.	Observations.
13,35	22	30	Normal. Régulier.
13.50	—	—	L'injection est pratiquée.
13,51	20	32	Irrégulier dans l'amplitude.
13,54	15	30	Le cœur est un peu moins irrégulier.
14	14	22	Le cœur est très irrégulier.
14,10	7	6	Le cœur bat régulièrement.
14,14	—	—	Mort brusque en *systole*.

Le résultat de cette expérience est en tous points semblable à celui des autres expériences. La symptomatologie de l'empoisonnement est

identique également; seule la mort a été plus brusque et plus rapide (24 minutes).

Ces expériences démontrent péremptoirement que l'action de la péronine est plus rapide lorsque le produit est porté directement dans la circulation. Toutefois, hormis cette question de temps, les phénomènes observés sont très analogues, que la péronine soit introduite par le péricarde ou par l'endocarde.

Le nombre des battements cardiaques diminue d'emblée. Ce ralentissement se poursuit d'une façon régulière et progressive jusqu'à la mort du cœur.

L'amplitude de la contraction cardiaque décroit également. Mais, contrairement à ce qui a été observé pour le nombre des pulsations du cœur, cette diminution de l'énergie cardiaque n'est pas toujours immédiate. Inversement même, une augmentation de la hauteur de contraction peut être le résultat de l'administration de la péronine. Toutefois, le maintien ou l'accentuation de la systole n'est que temporaire et le myocarde ne tarde pas à faiblir, jusqu'à disparition de toute contraction.

Il est digne de remarque, que c'est l'injection intraveineuse de péronine qui amène un renforcement momentané de l'activité cardiaque; l'action extérieure du poison ne produit nullement le même phénomène.

Le rythme cardiaque, envisagé dans son ensemble, subit également des altérations manifestes. Les contractions myocardiques deviennent irrégulières, presque d'emblée, si la péronine est injectée dans la circulation; un peu plus tardivement si le cœur baigne dans le poison. Lorsque l'intoxication est profonde et que la mort du cœur est proche, cet organe reprend sa régularité de travail. Le muscle cardiaque s'arrête toujours en systole. Cet arrêt est définitif; car aucun excitant ne parvient à manifester une influence heureuse quelconque.

2° Action de la péronine sur le cœur isolé.

Le cœur de tortue, isolé avec toutes les précautions indispensables, est adapté à un appareil à perfusion. Le cœur est lavé et nourri au moyen du liquide physiologique de RINGER. Le lecteur trouvera dans un travail antérieur (1) les détails de technique et la description des modifications que j'ai cru pouvoir apporter à l'appareil à perfusion de KRONECKER.

Le tableau suivant donne les protocoles résumés des expériences instituées dans cette série de recherches.

---

(1) A. LIPPENS : *De l'action du camphre, de l'oxycamphre et du bornéol sur le cœur isolé de tortue, particulièrement après empoisonnement du muscle cardiaque par l'hydrate de chloral.* Annales de la société royale des sciences médicales et naturelles de Bruxelles, t. XVI, f. 1-2 1907, (pp. 275-345). Travaux du laboratoire de Thérapeutique de l'Université de Bruxelles, t. VI, 1907.

Numéros d'ordre.	Température des liquides.	Temps en minutes.	Liquide extérieur.	Liquide de perfusion.	Temps de perfusion.	Nombre de battements à la minute.	Amplitude des battements en millimètres.	Observations	Conclusions.
V	21.5°	—	Ringer	Ringer	—	14	13	Normal. Battements d'amplitude régulière mais irréguliers dans leur succession.	A la dose de 1/5000, la péronine se montre déjà un poison énergique du cœur de tortue. Elle abaisse le nombre et surtout l'amplitude des contractions; elle modifie peu la régularité du rythme. Le Ringer a rétabli dans de faibles proportions l'énergie cardiaque. Le cœur meurt en *systole*.
		0	»	15 ct³ de péronine à 1/5000.	6 sec.	—	—	Le premier battement a été de 17 millimètres, les contractions diminuent ensuite graduellement d'amplitude.	
		1 minute	»	—	—	14	6	Battements réguliers. Pause diastolique.	
		5 minutes	»	—	—	12	3	Idem.	
		6 »	»	Ringer	40 sec.	16	7	Battements moins réguliers. Plus de pause diastolique	
		7 min. 30 s.	»	Ringer	30 sec.	14	11	Battements irréguliers dans leur amplitude et leur succession.	
		8 » 30 »	»	Ringer	30 sec.	14	14	Battements plus réguliers	
		12 » 30 »	»	—	—	14	3	Battements réguliers. Tracé en tous points identique à celui fourni par la péronine.	
		13 » 30 »	»	Ringer	60 sec.	16	12	Battements réguliers, dont l'amplitude se maintient.	
		15 minutes	»	12 ct³ solution de péronine à 1/5000	24 sec.	—	—	La première contraction assez énergique est suivie immédiatement par des contractions de plus en plus faibles.	
		17 »	»	—	—	12	3	Battements réguliers. Pause diastolique.	
		19 »	»	—	—	12	1 à 1/2	Idem.	
		20 »	»	Ringer	45 sec.	22	1 1/2	Idem.	
			»	Nombreux Ringer	—	—		Ne parviennent pas à ranimer [illegible] meurt en *systole* [illegible]	

		0	Péronine 1/5000	—	—	18	22	Idem	trée extérieurement au titre de 1/5000 est moins toxique que par voie de perfusion. Elle produit les mêmes symptômes, mais ils sont plus atténués. Le cœur meurt en *systole*.
		3 minutes	»	Ringer	40 sec.	14	20	Battements moins réguliers, surtout dans leur succession. Pause diastolique.	
		7 »	»	Ringer	30 sec.	12	18	Idem.	
		8 »	Ringer	—	—	12	20	Idem.	
		14 »	»	Ringer	45 sec.	16	19	Battements réguliers.	
		16 »	»	10 ct³ de péronine à 1/5000	30 sec.	16	17	Battements irréguliers.	
		18 »	»	—	—	11	9	Idem.	
		19 »	»	—	—	12	4	Battements réguliers	
		20 »	»	Ringer	—	11	3		
		—	»	Nombreux Ringer				Le cœur meurt en *systole*.	
VII	20°	—	Ringer	Ringer	—	21	25	Normal. Régulier.	A la concentration de 1/2000 l'action externe de la péronine est manifestement la même que celle provoquée par administration interne, toutefois un peu moins rapide. En perfusion à la dose de 1/2000 la péronine est un poison violent, provoquant comme toujours d'ailleurs, de l'irrégularité des contractions cardiaques et amenant un abaissement notable de l'énergie du cœur.
		0	Péronine 1/2000	—	—	20	19	Petite pause diastolique.	
			»	Ringer	27 sec.	14	30	Irrégularité dans l'amplitude et la succession des battements.	
		3 minutes	»	—	—	10	20	Idem.	
		4 »	»	Ringer	30 sec.	12	30	Profondément irrégulier.	
		7 »	»	Ringer	24 sec.	11	25	Idem	
		8 m. 30 s.	»	—	—	9	13	Idem.	
		9 minutes	Ringer	—	—	9	12	Idem.	
		10 »	»	Ringer	20 sec.	9	20	Le cœur bat plus régulièrement.	
		17 »	»	3 Ringer	—	16	25	Régulier.	

Numéros d'ordre.	Température des liquides.	Temps en minutes.	Liquide extérieur.	Liquide de perfusion.	Temps de perfusion.	Nombre de battements à la minute.	Amplitude des battements en millimètres.	Observations.	Conclusions.
VII *Suite*	20°	0	Ringer	10 ct^3 de péronine à 1/2000	9 sec.	—	—	La 1re contraction est brusque, elle atteint 35 mill. d'amplitude; elle est suivie d'une diastole lente (20 secondes) mais incomplète. Nouvelle systole plus faible que la première, suivie à nouveau d'une diastole lente. Quatre contractions suivent encore	Vers la période finale le cœur se régularise.
		2 minutes	»		—	0	0	mais très faibles. Après 2 minutes le cœur ne se contracte plus.	
		2 m. 24 s.	»	Ringer	15 sec.	3	1	Contractions lentes et pénibles.	
		2 m. 42 s.	»	8 Ringer	—	20	19	Les battements faibles, espacés et irréguliers au début, arrivent à être à peu près normaux.	
		—	»	7 ct^3 de péronine à 1/2000	9 sec.	—	-	Les contractions décroissent rapidement en hauteur et en nombre.	
			»		—	—	—	Le cœur meurt en *systole;* il ne réagit plus au courant électrique.	
VIII	20°	—	Ringer	Ringer	—	23	25	Normal. Régulier.	La péronine à la concentration de 1/2000 est très toxique pour le cœur de tortue. Elle abaisse immédiatement l'amplitude des systoles [illegible]
		0	»	12 ct^3 de péronine à 1/2000	12 sec.	13	8	Les battements deviennent immédiatement irréguliers. La ligne unissant les sommets des systoles monte.	
		1 m. 30 sec.	»	—	—	12	1 1/2 à 1	[illegible]	

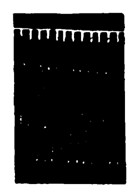
		4 m.	»	—	—	—	-	Mort en *systole*.	[illegible] siste pas et plus le cœur faiblit, plus il se régularise.
		—	»	8 Ringers	—	—	—	N'agissent pas. Le cœur ne réagit plus au courant électrique	
IX	1905	—	Ringer	Ringer	—	22	25	Normal Un peu irrégulier dans l'amplitude.	La péronine à la concentration de 1/1000 est excessivement toxique. Elle produit les phénomènes habituels d'empoisonnement par cet agent. Le Ringer peut au début de l'intoxication manifester une faible action favorable.
		0	»	6 ct³ de péronine à 1/1000	27 sec.	—	—	Quatre contractions irrégulières, puis arrêt en systole au bout de 21 secondes Cet arrêt persiste 50 secondes, puis se produit une diastole brusque.	
		1 min. 11 s.	»	—	—	22	3	Battements irréguliers. Pas de pause diastolique	
		4 min. 11 s.	»	Ringer	40 sec.	18	10	Très irréguliers.	
		—	»	4 Ringer	—	18	19	Plus réguliers	
		10 m. 11 s.	»	10 ct³ de péronine à 1/1000	24 sec.	10	4	Pause diastolique.	
		13 m. 11 s.	»	—	—	11	1	La ligne systolique monte.	
		14 m. 11 s.	»	Plusieurs Ringer	—	—	—	Pas d'effet utile Le cœur meurt en *systole*.	
X	1905	—	Ringer	Ringer	-	26	26	Normal. Régulier.	Mémes symptômes que ci-dessus Le Ringer administré après la cessation des contractions n'a eu aucun effet utile.
		0	»	10 ct³ de péronine à 1/1000	21 sec	11	Variable	Quelques pulsations assez énergiques mais irrégulières (15 mill.) suivies immédiatement de pulsations plus faibles (4 mill.) toujours irrégulières. La ligne systolique monte.	
		4	»	—	—	16	1 2	Plus régulières.	
		6	»	—	—	—	»	Mort en *systole*.	
		—	Nombreux Ringer	—	—	—	»	N'ont aucune influence favorable	

A. — La solution de péronine est administrée extérieurement.

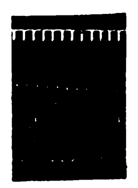
Le rythme d'un cœur de tortue plongé dans de la péronine subit des modifications d'autant plus manifestes que la concentration de la solution employée est plus élevée.

Une dose de 1/5000 n'influence pas immédiatement les contractions normales du cœur. Mais, au bout d'un certain laps de temps, court d'ailleurs, le nombre et l'amplitude des battements diminuent et l'ensemble des pulsations dénote un travail irrégulier du cœur. Cette irrégularité se manifeste tant dans l'amplitude que dans la succession des contractions. Dès que le ralentissement des battements est établi, il se produit toujours une pause diastolique.

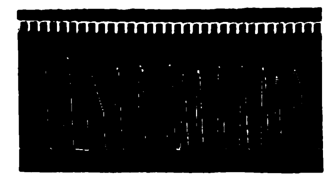
Si la solution de péronine est plus concentrée (1/2000), les symptômes ci-dessus décrits sont identiques, ils se présentent avec plus d'intensité. (Tracés II et III).



Tracé I.
Expérience VII. — Tracé normal.



Tracé II.
Expérience VII. — 30 secondes après administration externe de péronine en solution à 1/2000.



Tracé III.
Expérience VII. — 3 minutes 30 secondes après administration externe de la péronine en solution à 1/2000. Le cœur a été lavé au moyen d'une perfusion de Ringer deux minutes avant la prise de ce tracé.

Le lavage interne par le Ringer d'un cœur immergé dans une solution de péronine ne parvient que très partiellement à masquer les phénomènes d'empoisonnement. En effet, si des perfusions de Ringer sont susceptibles de ramener à la normale l'amplitude des contractions

cardiaques, en aucun cas. elles n'arrivent à augmenter, la fréquence des pulsations. L'action favorable de la solution de Ringer sur l'amplitude cardiaque n'est d'ailleurs elle-même que de très courte durée; les caractères de l'intoxication par la péronine reprennent très rapidement le dessus et s'accentuent graduellement.

La substitution extérieure du Ringer à la péronine, associée aux lavages internes par cette solution physiologique, a une influence pusl appréciable. Dans ces conditions, tant la hauteur que le nombre des systoles augmentent; toutefois, jamais la fréquence des contractions n'atteint le chiffre normal.

B. — La solution de péronine est perfusée par le cœur.

L'empoisonnement d'un cœur de tortue par voie de perfusion est, en tous points, identique à celui provoqué par administration externe. Il convient d'ajouter que la péronine agit plus rapidement par la voie endocardique. Beaucoup de poisons cardiaques agissent d'ailleurs de cette façon; des expériences antérieures me l'ont prouvé. (1)

L'action de la péronine en perfusion se manifeste immédiatement. Ainsi que j'ai eu l'occasion de le signaler en parlant des essais faits sur le cœur *in situ*, la péronine excite parfois le travail cardiaque. Les expériences V et VII en sont le témoignage. Mais, cette excitation est toute momentanée, et la chute de l'amplitude cardiaque est aussi brusque que rapide.

Le nombre des pulsations faiblit également. Ce phénomène, comparé avec le précédent, est moins intense quoique net.

Ici encore, la péronine provoque une grande irrégularité dans le rythme cardiaque. Toutefois, cette irrégularité ne persiste pas jusqu'à la mort du cœur. En effet, au fur et à mesure que la fréquenee et l'amplitude des contractions décroissent le rythme se régularise. Ce fait, que j'ai observé sans la moindre exception au cours de mes expériences sur la péronine, me paraît des plus intéressants; car. à ma connaissance il n'est produit par aucun autre poison cardiaque. Le tracé IV montre clairement ce phénomène que l'on retrouve aussi dans les graphiques illustrant le travail de Vinci. Toutefois cet auteur ne semble pas avoir eu son attention attirée par cette particularité.

Chaque pulsation, envisagée isolément, ne montre pas d'anomalie dans sa constitution. On peut signaler cependant l'existence d'une pause diastolique précédant chaque systole.

La mort du cœur de tortue intoxiqué par la péronine. même à faible

---

(1) A. Lippens : Loco citato.

Tracé IV

Expérience X — Tracé normal d'un cœur de tortue suivi du tracé fourni par un empoisonnement au moyen d'une perfusion de 10 cm^3 de péronine en solution dans le Ringer à 1/1000.

dose, est rapide. Le cœur de la tortue se montre pourtant un peu plus résistant que celui du lapin, ainsi qu'il ressort de la comparaison des résultats de VINCI avec les miens. Comme l'a très bien démontré cet auteur et contrairement à l'opinion de PIÉRART (1) ***la mort du cœur se produit toujours en systole.***

Le tracé IV fait ressortir nettement ce fait et montre en même temps les modifications apportées dans le rythme cardiaque par une perfusion de péronine.

Le liquide de Ringer dont les propriétés revivifiantes sont si remarquables, ne possède sur l'empoisonnement du cœur par la péronine qu'une influence peu appréciable. Lorsque le poison a été administré pour la première fois, que son action a été de courte durée et que les phénomènes d'intoxication ne sont pas très avancés, de nombreux et copieux lavages au moyen du liquide de Ringer peuvent ranimer momentanément et partiellement le cœur. Au contraire, lorsqu'à la suite d'une seule application de péronine, le cœur est arrêté depuis une ou deux minutes, ces lavages ne parviennent pas à lui rendre ses mouvements. Il en est de même, si ces lavages sont appliqués sur le cœur encore animé de contractions mais ayant subi deux empoisonnements au lieu d'un.

En résumé, *la péronine est un poison possédant une action directe très énergique sur le cœur, qu'elle tue rapidement et définitivement.*

Ce produit, qu'on a proposé comme un succédané de la morphine est, à mon avis, tout à fait à rejeter. Certains auteurs, GEVAERT (2), EBERSON (3) auraient obtenu des effets satisfaisants à la suite de son emploi; Eberson prétend même que la péronine est sans action sur le cœur. Par contre, IDE (4), MAYOR (5), PIÉRART (6) et STOKVIS (7) la considèrent comme dangereuse en raison de son action nocive si intense sur le cœur. Mes expériences m'amènent à me rallier entièrement à ce dernier avis.

---

(1) A. PIÉRART : *Quelques expériences sur l'action physiologique de la péronine.* Annales de la Société royale des sciences médicales et naturelles de Bruxelles, t. VIII, 1899, pp. 193-215. Travaux du laboratoire de thérapeutique de l'Université de Bruxelles, t. II, 1899-1900.

(2) GEVAERT : Loco citato.

(3) M. EBERSON : *Peronin, ein neues Sedativum.* Therapeutische Monatshefte, t. XI, 1897, pp. 591-593.

(4) M. IDE : Traité de thérapeutique. Louvain, 1905, p. 107.

(5) A. MAYOR : *Experimentellen Beiträge zur Kenntniss einiger Morphinderivate.* Therapeutische Monatshefte, t. XVII, 1903, pp. 223-230 et 281-294.

(6) A. PIÉRART : Loco citato.

(7) STOKVIS : *Leçons de pharmacothérapie.* Traduction française de De Buck et De Moor, 1905, t. III, p. 650.

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE DE L'UNIVERSITÉ DE GENÈVE
DIRECTEUR, PROF. J. L. PREVOST.

Action des antipyrétiques et des alcaloïdes sur la respiration des tissus « in vitro »

PAR

S. SENTA

I. — Introduction.

Les recherches auxquelles je me suis livré, sur le conseil et sous la direction de M. BATTELLI, ont pour but d'étudier l'action de quelques médicaments, fréquemment employés, sur la respiration des tissus isolés *in vitro*. Les substances étudiées dans ce travail comprennent les antipyrétiques : quinine, salicylate de soude, antipyrine et pyramidon, et les alcaloïdes suivants: morphine, caféïne, cocaïne, atropine, pilocarpine et nicotine.

Le mode d'action des antipyrétiques varie suivant la substance considérée; la quinine, le salicylate de soude, d'après l'opinion la plus généralement acceptée, agissent surtout comme antiseptiques. L'antipyrine et son dérivé le pyramidon ne produiraient leur effet antithermique que par l'intermédiaire du système nerveux central.

Les alcaloïdes, eux, produisent tous leurs effets par l'intermédiaire du système nerveux cérébral, médullaire ou périphérique.

Toutefois, malgré les nombreuses recherches auxquelles ces substances ont donné lieu, il faut reconnaître que le processus intime, par lequel elles agissent, est encore inconnu. Etudiées surtout *in vivo*, provoquant des phénomènes le plus souvent complexes, il est bien difficile, en effet, d'en tirer des conclusions d'une exactitude rigoureuse.

C'est pourquoi j'ai voulu, après des travaux analogues publiés par M. BATTELLI et M[lle] STERN (1), examiner les résultats que donneraient ces substances, en me plaçant exclusivement au point de vue de la respiration

(1) BATTELLI et STERN : *Action de quelques substances sur l'activité respiratoire des tissus isolés*. Journ. de physiol. et de pathol. génér. n° 2, mars 1907. — Id. : *Action des sels et du glycose sur l'activité respiratoire des tissus animaux isolés*. Archiv. intern. de physiol. 1907, vol. IV, fasc. 4.

des tissus *in vitro*. Le problème considéré sous cette seule face devenait beaucoup moins compliqué et l'interprétation des résultats beaucoup plus aisée.

Un grand nombre d'auteurs se sont occupés de la respiration des tissus animaux isolés: SPALLANZANI (1), PAUL BERT, REGNARD (2), RUBNER (3), FREY (4), TISSOT (5), QUINQUAUD (6), LUSSANA (7). Généralement on s'est contenté de mettre des organes ou des fragments d'organes dans des récipients dans lesquels on dosait le dégagement de CO^2 et l'absorption d'O^2 après un certain laps de temps. Plus récemment BATTELI et STERN dans le but d'augmenter la valeur des échanges respiratoires et de porter plus facilement au contact des tissus les substances à étudier, employèrent une méthode différente : les tissus, au lieu d'être pris en bloc, sont finement broyés et énergiquement agités pendant toute la durée de l'expérience.

L'action des différentes substances sur les échanges gazeux des tissus *in vitro* n'a été étudiée que par un nombre très limité d'auteurs. LUSSANA (8) a étudié l'action de certains sels métalliques sur la respiration des tissus isolés (pattes de grenouille). Il trouve ainsi que certains chlorures (de Cu, de Mg, de Ni, de Co, de Hg, de Ba, de Ca) diminuent l'intensité des phénomènes respiratoires. D'autres laissent cette respiration intacte (chlorure de K, de Sr); le chlorure d'ammonium l'augmente. FOÀ et AGGAZZOTTI (9) du résultat de leurs expériences sur l'action des métaux colloïdaux concluent que l'argent colloïdal en faible quantité n'a pas d'action appréciable sur le pouvoir respiratoire des muscles ou du foie; il a pourtant une tendance à élever un peu les échanges gazeux. En concentration plus forte l'argent et le platine colloïdaux font baisser le pouvoir respiratoire des tissus. On peut rapprocher de ces recherches

---

(1) SÉNEBIER : *Rapports de l'air avec les êtres organisés,* tirés des journaux d'observations et d'expériences de L. Spallanzani. Genève 1807, t. II. Mémoire XI-XII.

(2) REGNARD : *Recherches expérimentales sur les variations pathologiques des combustions respiratoires.* Thèse de Paris 1878.

(3) A. RUBNER : *Versuche über das Einfluss der Temperatur auf die Respiration des ruhenden Muskels.* Archiv für Physiol. 1885, p. 38-66.

(4) V. FREY : *Versuche über den Stoffwechsel des Muskels.* Arch. f. Physiol. 1885, p. 533.

(5) TISSOT : *Recherches sur la respiration musculaire.* Arch. de physiol. normale et pathol. 1894, p 838. — Id. : *Recherches sur les échanges gazeux des muscles isolés du corps.* Ibid. 1895, p. 469.

(6) QUINQUAUD : *Note sur la capacité respiratoire des tissus privés de germes.* Soc de biol 1890, p. 29. — *Sur le début de la putréfaction des tissus.* Ibid., p. 30.

(7) LUSSANA : *Sugli scambi respiratori del fegato e sul loro valore in rapporto all' amilolisi epatica.* Archivio de Fisiologia 1905, t. II, p. 445.

(8) LUSSANA : *Influenza degli ioni metallici sopra la respirazione dei tessuti.* Bulletino delle scienze mediche 1907, vol VII, p. 169.

(9) Foà et AGGAZZOTTI : *Metalli colloïdale e potere respiratorio dei tessuti.* Giorn. dell'Accad. di Medicina. Torino 1907, p. 394.

celles de LAQUEUR (1) sur l'action de la quinine. D'après cet auteur, les modifications apportées par la quinine dans la production de la chaleur, seraient complètement indépendantes du système nerveux central; elles se feraient aussi dans un tissu séparé du corps. Il faudrait donc admettre que cette substance agit sur les processus vitaux intimes des cellules, processus qui se font surtout par l'intermédiaire des ferments. LAQUEUR a fait des recherches vis-à-vis du processus autolytique de la cellule hépatique et a constaté que l'autolyse du foie de lapin est nettement gênée par une dose de quinine de 0,05 pour 100; si l'on arrive à la concentration de 0,5 pour 100, l'autolyse est absolument abolie. Vis-à-vis de la pepsine, la quinine à 0,8 pour 100 augmente son action digestive; à 1,5 pour 100 la digestion est ralentie mais jamais abolie. La quinine agissant pour peu de temps augmenterait l'activité des ferments du sang (catalase en particulier).

La méthode dont je me suis servi est celle décrite par M. BATTELLI et Mlle STERN dans le Journal de physiologie et de pathologie générale (1907, p. 1 et p. 34) et qui peut se résumer ainsi : Les tissus frais, finement broyés, sont placés dans des ballons remplis d'O^2 et contenant un milieu alcalin convenable (en général; Na^2CO^3, 10 H^2O à 5/1000 + Na^2HPO^4, 12 H^2O à 4/1000). Ils sont alors soumis pendant toute la durée de l'expérience (30 minutes) à une agitation énergique, à la température de 38-39°. On dose alors la quantité d'O^2 absorbé et de CO^2 dégagé pendant ce temps.

Pour rendre les résultats comparables entre eux, je me suis toujours servi du chlorhydrate de la substance considérée. Dans le calcul de la concentration des différentes substances, un gramme de tissu a été considéré comme correspondant à 1 cc. de liquide.

II. — Action du chlorhydrate de quinine.

La quinine en abaissant la température chez l'homme atteint de paludisme agit surtout comme un antiseptique vis-à-vis du microorganisme de cette maladie. Chez l'homme sain, l'action thermique de la quinine est variable : tantôt elle est nulle, tantôt elle consiste en un léger abaissement; rarement on peut observer une élévation de la température. Mais, constamment, à doses élevées, les oscillations normales de la température diminuent. La quinine uniformiserait la température chez l'homme sain. Les doses toxiques produisent toujours l'hypothermie.

Chez les fébricitants l'action antithermique est plus accentuée, mais variable selon les maladies. Il faut en général une dose forte pour obtenir

(1) LAQUEUR : *Ueber die Wirkung Chinins auf Fermente mit Rücksicht auf seine Beeinflussung des Stoffwechsels.* Archiv für Experim. Path. und Pharm., LV, p. 240.

un effet appréciable. La quinine ne fait rien ou presque rien dans les fièvres éruptives; dans les fièvres telluriques, au contraire, elle est véritablement spécifique ; elle abaisse la température à des doses relativement faibles (0,80 ctg. à 1 gramme). Elle diminuerait le pouvoir oxydant du sang ainsi que l'absorption d'O^2 et l'excrétion de CO^2; elle produirait en somme un ralentissement des combustions organiques.

Dans mes expériences, comme je l'ai dit plus haut, les muscles broyés étaient plongés dans un milieu à réaction nettement alcaline, nécessaire pour obtenir une activité respiratoire élevée. Par conséquent, le chlorhydrate de quinine que j'ajoutais au mélange était décomposé et la base était en partie précipitée, si la concentration dépassait 1/2000. La solution du chlorhydrate de quinine était versée dans le flacon contenant le mélange de carbonate et de phosphate de Na avant d'y introduire le tissu broyé. Les résultats de quelques expériences types sont rapportés dans le tableau I.

TABLEAU I.

Action du chlorhydrate de quinine. La durée de l'agitation des flacons est de 30 minutes. L'O^2 absorbé et le CO^2 dégagé sont calculés pour 100 grammes de tissu.

Tissu	Liquide	Chlorhydrate de quinine	O^2 absorbé	CO^2 dégagé
1. Muscle de bœuf	NaOH 1/1000 + Na^2HPO_4 8/1000	—	77	53
»	»	Quinine 1/3000	63	41
»	»	» 1/1000	61	58
2. Muscle de bœuf	Na^2CO^3 5/1000 + Na^2HPO^4 7/1000	—	124	124
»	»	Quinine 1/3000	115	115
»	»	» 1/1000	63	115
3. Muscle de bœuf	Na^2CO^3 5/1000 + Na^2HPO^4 2/1000 + sang de bœuf	—	135	99
»	»	Quinine 1/2000	120	94
»	»	» 1/1000	104	110
4. Muscle de cheval	Sang de bœuf	—	120	135
»	»	Quinine 1/2000	85	115
»	»	» 2/1000	60	92
5. Muscle de cheval	Na^2CO^3 5/1000 + Na^2HPO^4 2/1000	—	150	132
»	»	Quinine 1/3000	118	123
»	»	» 1/1000	123	165
6. Muscle de chien	Na^2HPO^4 à 5/1000	—	245	150
»	»	Quinine 1/2000	170	110

Tissu	Liquide	Chlorhydrate de quinine		O^2 absorbé	CO^2 dégagé
7. Muscle de chien	Na^2CO^3 5/1000 + Na^2HPO^4 2/1000	—		173	140
"	"	Quinine	1/3000	156	148
"	"	"	1/1000	59	99
8. Muscle de chien	Na^2CO^3 5/1000 + Na^2HPO^4 2/1000	—		95	69
"	"	Quinine	1/3000	92	74
"	"	"	1/1000	38	57
9. Muscle de pigeon	Na^2CO^3 5/1000 + Na^2HPO^4 4/1000	—		319	352
"	"	Quinine	1/5000	297	341
"	"	"	1/4000	252	211
"	"	"	1/3000	196	281
"	"	"	1/2000	192	224
"	"	"	1/1500	145	216
10. Muscle de pigeon	"	—		330	264
"	"	Quinine	1/5000	330	270
"	"	"	1/4000	258	200
"	"	"	1/3000	150	242
"	"	"	1/2000	130	117
"	"	"	1/1500	117	121
11. Muscle de pigeon	"	—		290	300
"	"	Quinine	1/5000	281	270
"	"	"	1/4000	200	240
"	"	"	1/3000	171	260
"	"	"	1/2000	153	203
"	"	"	1/1500	64	198
12. Muscle de pigeon	"	—		330	360
"	"	Quinine	1/4000	200	255
"	"	"	1/3000	62	150
13. Muscle de pigeon	"	—		253	329
"	"	Quinine	1/1500	132	297
14. Muscle de pigeon	"	—		187	297
"	"	Quinine	1/4000	176	264
15. Muscle de pigeon	"	—		175	110
"	"	Quinine	1/3000	130	85

Les résultats du tableau I démontrent que l'influence de la quinine sur l'activité respiratoire des muscles des mammifères est peu marquée. A la dose de 1 pour 3000 le chlorhydrate de quinine ne produit qu'une diminution faible ou même nulle dans les échanges gazeux des muscles de bœuf, de cheval ou de chien. On peut toutefois remarquer que l'action de la quinine est plus nette lorsque l'activité respiratoire des muscles est très élevée.

Si la quinine est employée à des doses plus considérables, à 1 pour 1500 par exemple, les échanges gazeux des muscles subissent une diminution bien appréciable. Mais dans ce cas il faut tenir compte du fait qu'une partie de la quinine précipite dans le milieu alcalin où se trouvent les tissus. Les fines particules du précipité en se fixant sur les tissus pourraient agir par simple action mécanique en diminuant la surface respiratoire des débris musculaires.

On peut, en outre, constater que le dégagement de CO^2 tend à augmenter lorsque le chlorhydrate de quinine est employé à la dose de 1 pour 1000 ou de 1 pour 1500. Ce résultat doit aussi être attribué à la précipitation de la quinine. La base étant précipitée l'acide chlorhydrique est mis en liberté ; il diminue l'alcalinité du milieu et produit ainsi un dégagement plus considérable de CO^2.

L'action de la quinine aux différentes doses est plus manifeste sur les muscles de pigeon que sur ceux des mammifères. Cette sensibilité plus prononcée des muscles de pigeon vis-à-vis de la quinine pourrait être attribuée soit au fait que les échanges gazeux sont plus actifs chez le pigeon soit à ce que les muscles chez cet animal présentent une résistance moindre aux divers agents qui les attaquent.

La diminution, quoique assez constante, varie toutefois dans des limites assez larges chez les différents individus. Ici encore on peut remarquer que plus l'activité respiratoire est élevée plus l'action de la quinine est nette. Ainsi sur des muscles de pigeon frais, dont la respiration est très active, la diminution des échanges gazeux sous l'influence de la quinine est plus accusée, que sur des muscles provenant d'un pigeon mal nourri, ou simplement gardé longtemps en cage.

En prenant les moyennes de l'absorption d'O^2 obtenue dans les expériences que j'ai faites sur le pigeon, j'ai construit le tracé de la figure I. Un certain nombre d'expériences, dont les moyennes ont servi à dresser ce tracé n'ont pas été reproduites, pour abréger, dans le tableau I.

Le tracé de la figure 1 démontre qu'à la dose de 1 pour 5000 la quinine est à peu près sans effet. Elle commence à agir à la dose de 1 pour 4000, puis l'absorption d'O^2 diminue assez graduellement pour les doses de 1 pour 3000 et de 1 pour 2000. En passant de la concentration de 1 pour 2000 à celle de 1 pour 1500 l'abaissement dans l'absorption d'O^2 fait un saut brusque et tombe de 64,8 pour 100 à 35 pour 100.

Si nous voulions rapporter à l'organisme vivant les résultats que la quinine nous a fournis *in vitro* nous devrions conclure que l'action directe

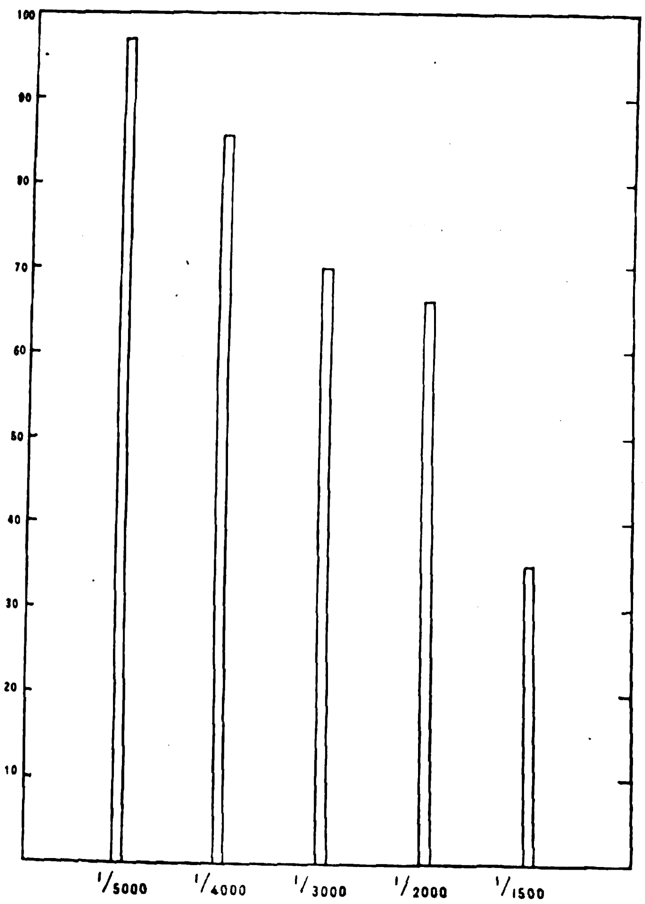


Fig. 1. - Action du chlorhydrate de quinine sur l'absorption d'O^2 par les muscles de pigeon. En abscisse sont placées les doses de quinine employées, en ordonnées les valeurs d'O^2 absorbé. La valeur de *100* correspond à l'absorption d'O^2 par le muscle tel quel, sans addition de quinine.

de la quinine sur la respiration intime des tissus est peu considérable. En effet l'influence de la quinine ne commence à se manifester que lorsque sa concentration atteint 1 pour 4000 ou pour 3000. Or les quantités de quinine ingérées dans un but thérapeutique sont loin d'atteindre des doses aussi élevées. Mais nous avons constaté que *in vitro* la quinine agit d'autant plus énergiquement que les échanges respiratoires du muscle sont plus intenses. Ainsi les muscles de pigeon sont plus sensibles à l'action de la quinine que ceux des mammifères. On pourrait donc admettre que l'influence de la quinine devient plus considérable dans la fièvre, où l'intensité respiratoire des tissus atteint un degré plus

élevé. On sait, en effet que la quinine n'abaisse pas la température chez les animaux apyrétiques à moins d'employer des doses toxiques.

On doit aussi remarquer que l'action antipyrétique de la quinine est peu marquée dans les accès fébriles qui ne sont pas d'origine paludéenne.

Les résultats de mes expériences n'excluent donc pas l'hypothèse d'après laquelle la quinine abaisserait la température fébrile en agissant directement sur la respiration intime des tissus.

III. — Action du salicylate de soude.

L'acide salicylique est un faible antiseptique; il entrave pendant quelque temps le développement des bactéries et des ferments sans arriver à les détruire. Son sel de soude l'est encore à un moindre degré.

Chez l'homme sain, l'acide salicylique n'a pas une action thermique bien nette; tantôt il abaisse la température; le plus souvent même il ne produit aucune modification.

Chez le fébricitant l'abaissement thermique est la règle; cet abaissement est plus prononcé et plus rapide que celui produit par la quinine; mais il faut employer de plus hautes doses. On admet généralement que 2 grammes d'acide salicylique produisent le même effet, au point de vue antipyrétique, qu'un gramme de sulfate de quinine.

Je rapporte dans le tableau II les résultats de quelques expériences types démontrant l'action du salicylate de soude sur les muscles de différentes espèces animales.

TABLEAU II.

Action du salicylate de soude. La durée d'agitation des flacons est de 30 minutes. L'O^2 absorbé et le CO^2 dégagé sont calculés pour 100 grammes de tissu.

Tissu	Liquide	Salicylate de soude	O^2 absorbé	CO^2 dégagé
1. Muscle de bœuf	Sang de bœuf + Na^2CO^3 5/1000	—	130	80
»	»	Salicylate 1/1000	115	82
»	»	» 1/200	51	41
2. Muscle de bœuf	Na^2CO^3 5/1000 + Na^2HPO^4 2/1000	—	176	123
»	»	Salicylate 1/500	145	132
»	»	» 1/200	66	58
3. Muscle de bœuf	Sang de bœuf + Na^2CO^3 5/1000	—	140	115
»	»	Salicylate 1/1000	138	107
»	»	» 1/500	77	66

Tissu	Liquide	Salicylate de soude		O^2 absorbé	CO^2 dégagé
4. Muscle de cheval	Na^2CO^3 5/1000 + Na^2HPO^4 2/1000	—		150	132
»	»	Salicylate	1/2000	133	140
»	»	»	1/500	122	123
5. Muscle de chien	»	—		173	140
»	»	Salicylate	1/1000	160	140
»	»	»	1/500	143	140
6. Muscle de chien	»	—		95	69
»	»	Salicylate	1/500	34	41
7. Muscle de pigeon	Na^2CO^3 5/1000 + Na^2HPO^4 4/1000	—		290	330
»	»	Salicylate	1/1500	210	240
8. Muscle de pigeon	»	—		189	243
»	»	Salicylate	1/2000	162	189
9. Muscle de pigeon	»	—		300	270
»	»	Salicylate	1/2000	250	210
»	»	»	1/1000	220	210
»	»	»	1/500	120	120
»	»	»	1/250	45	90
10. Muscle de pigeon	»	—		270	270
»	»	Salicylate	1/4000	195	195
»	»	»	1/3000	185	195
»	»	»	1/2000	140	150
»	»	»	1/500	80	90
»	»	»	1/250	50	90
11. Muscle de pigeon	»	—		190	150
»	»	Salicylate	1/5000	170	150
»	»	»	1/2000	162	132
12. Muscle de pigeon	»	—		295	236
»	»	Salicylate	1/5000	232	174
»	»	»	1/2000	112	101

Les résultats du tableau II montrent que le salicylate de soude doit atteindre une concentration assez élevée pour exercer une action un peu marquée sur la respiration des muscles de mammifères. Il faut employer

une dose de 2 pour 1000 environ pour constater une diminution nette dans les échanges respiratoires des tissus isolés.

Les muscles de pigeon sont plus sensibles à l'action du salicylate de soude. On peut déjà constater un abaissement assez marqué de l'activité respiratoire lorsque la concentration du salicylate atteint 1 pour 4000 ou 1 pour 3000. Je ferai remarquer ici, comme je l'ai déjà fait à propos de la quinine, que la diminution des échanges gazeux, quoique constante, varie beaucoup comme intensité d'un animal à l'autre. Les muscles de chaque pigeon réagissent différemment selon leur degré de vitalité : les animaux frais, bien nourris, à respiration tissulaire intense, sont plus sensibles que les autres.

Les considérations que j'ai faites à propos de la quinine peuvent s'appliquer au salicylate de soude. Les résultats de mes expériences

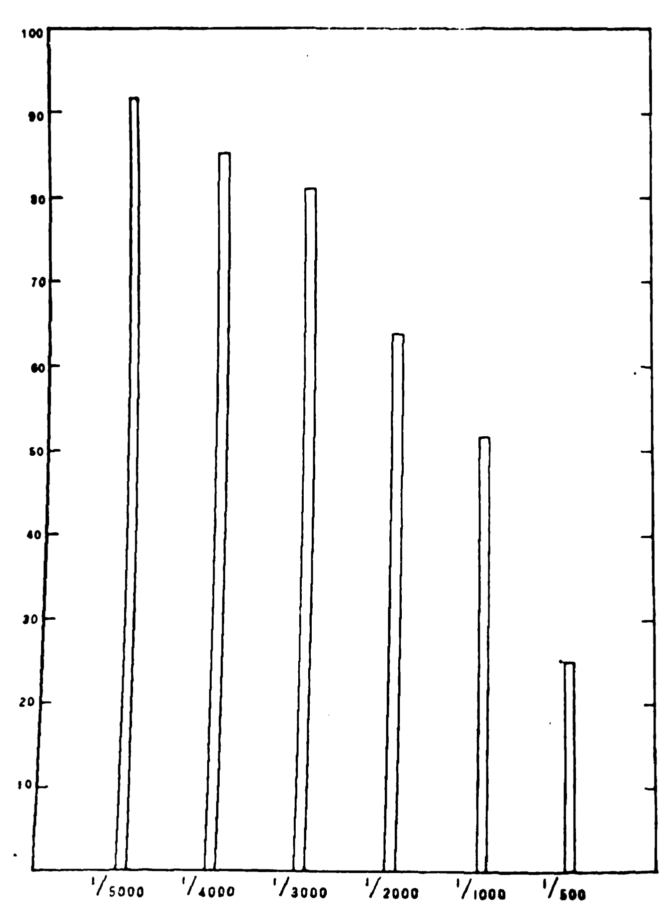


Fig. 2. — Action du salicylate de soude sur l'absorption d'O^2 par les muscles de pigeon. En abscisse sont placées les doses de salicylate employées, en ordonnées les valeurs d'O^2 absorbé. La valeur de 100 correspond à l'absorption d'O^2 par le muscle tel quel sans addition de salicylate.

in vitro n'excluent pas la possibilité que dans la fièvre le salicylate agisse aussi sur la respiration intime des tissus.

En prenant les moyennes des expériences faites avec le salicylate de soude, dont une partie seulement est rapportée dans le tableau II, on peut construire le tracé de la figure 2.

Ce tracé montre qu'à la dose de 1 pour 5000 on a déjà une légère diminution de la respiration des tissus. La dose augmentant l'intensité des échanges respiratoires diminue assez graduellement. A 1 pour 1000 la diminution est de 50 pour 100 environ, et à la dose de 1 pour 500 l'activité respiratoire n'est plus, en moyenne, que de 27 pour 100.

IV. — Action de l'antipyrine et du pyramidon.

L'antipyrine est un léger antiseptique; le sang mélangé d'antipyrine *in vitro* résiste longtemps à la putréfaction. (1)

Ingérée par l'homme sain elle ne provoque aucun changement de température. Chez le fébricitant, au contraire, la chute de température est la règle, et, selon la plupart des auteurs, elle se ferait par l'intermédiaire du système nerveux central.

Le pyramidon aurait la même action mais serait trois fois plus actif.

U. Mosso (2), toutefois, fait remarquer que la fièvre produite par l'injection de *staphylococcus pyogenes* est indépendante du système nerveux et représente la fièvre propre des tissus. Or l'antipyrine, dans ce cas, abaisse la température, tandis qu'elle ne fait rien contre contre l'hyperthermie produite par l'injection de cocaïne (élévation de température se faisant par l'intermédiaire du système nerveux).

Je rapporte dans le tableau III une partie des expériences que j'ai faites avec l'antipyrine et le pyramidon.

---

(1) Hénocque : *Des propriétés hémostatiques de l'antipyrine*. C. R. de la Société de Biologie, 1888, t. XL, p. 14.

(2) U. Mosso : *La doctrine de la fièvre et les centres thermiques cérébraux*. Étude sur l'action des antipyrétiques. Archives ital. de biol. 1890-1891 (XIII-XIV), p. 451.

TABLEAU III.

Action de l'antipyrine et du pyramidon. La durée d'agitation des flacons est de 30 minutes. L'O^2 absorbé et le CO^2 dégagé sont calculés pour 100 gr. de tissu.

Tissu	Liquide	Antipyrine ou pyramidon	O^2 absorbé	CO^2 dégagé
1. Muscle de bœuf	Na^2CO^3 5/1000 + Na^2HPO^4 2/1000	—	157	123
"	"	Pyramidon 1/1000	140	123
"	"	" 4/1000	130	140
"	"	Antipyrine 1/1000	153	101
2 Muscle de bœuf	Sang de bœuf + Na^2CO^3 5/1000	—	130	80
"	"	Pyramidon 2/1000	128	99
"	"	" 5/1000	69	74
"	"	Antipyrine 2/1000	130	102
"	"	" 5/1000	125	99
3. Muscle de bœuf	Na^2CO^3 5/1000 + Na^2HPO^4 2/1000	—	176	123
"	"	Pyramidon 2/1000	137	140
"	"	" 5/1000	120	140
"	"	Antipyrine 2/1000	127	115
"	"	" 5/1000	133	140
4. Muscle de cheval	Na^2CO^3 5/1000 + Na^2HPO^4 2/1000	—	150	132
"	"	Pyramidon 2/1000	116	135
"	"	Antipyrine 2/1000	118	123
5. Muscle de chien	Na^2HPO^4 à 5/1000	—	245	150
"	"	Antipyrine 1/1000	230	140
6. Muscle de chien	Na^2CO^3 5/1000 + Na^2HPO^4 2/1000	—	173	140
"	"	Pyramidon 1/1000	143	123
"	"	" 2/1000	107	120
"	"	Antipyrine 2/1000	133	120
7. Muscle de chien	"	—	95	69
"	"	Antipyrine 2/1000	84	74
8 Muscle de pigeon	Na^2CO^3 5/1000 + Na^2HPO^4 4/1000	—	385	419
"	"	Pyramidon 1/1000	346	363
"	"	Antipyrine 1/1000	368	380

Tissu	Liquide	Antipyrine ou pyramidon	O^2 absorbé	CO^2 dégagé
9. Muscle de pigeon	Na^2CO^3 5/1000 + Na^2HPO^4 4/1000	—	290	330
"	"	Pyramidon 1/1000	235	255
"	"	Antipyrine 1/1000	240	260
10. Muscle de pigeon	"	—	150	187
"	"	Pyramidon 1/1000	123	161
"	"	" 2/1000	81	131
"	"	" 10/1000	36	108
11. Muscle de pigeon	"	—	412	405
"	"	Antipyrine 2/1000	256	270
"	"	" 4/1000	162	189
"	"	" 10/1000	101	189
12. Muscle de pigeon	"	—	370	360
"	"	Pyramidon 1/1000	330	330
"	"	" 2/1000	215	220
"	"	" 10/1000	130	180

Les résultats du tableau III montrent que l'antipyrine et le pyramidon, même aux concentrations de 1 ou de 2 pour 1000, n'ont qu'une action peu marquée et inconstante sur la respiration des muscles des mammifères.

Les muscles de pigeon, qui pourtant sont plus sensibles à l'influence des différentes substances, réagissent aussi faiblement vis-à-vis de l'antipyrine et du pyramidon. Il faut le plus souvent atteindre une concentration de 2 pour 1000 pour observer une diminution bien accusée dans l'activité respiratoire des muscles de pigeon.

A doses égales, l'antipyrine et le pyramidon produisent généralement à peu près les mêmes résultats sur les échanges gazeux des muscles. Toutefois, dans quelques cas, l'action du pyramidon paraît être plus accusée.

Si nous voulions appliquer les résultats obtenus *in vitro* à l'organisme vivant, nous devrions conclure que l'antipyrine et le pyramidon ne produisent pas l'hypothermie en modérant les oxydations qui se font dans l'intimité de nos tissus. Il serait logique d'admettre que la chute de température observée quand on administre ces substances dans un but thérapeutique, se fait d'une façon indirecte, par l'intermédiaire du système nerveux notamment.

V. — Action du chlorhydrate d'atropine, de pilocarpine et de nicotine.

Les variations de température produites par l'atropine sont peu marquées aux doses thérapeutiques. Des doses plus élevées produiraient une élévation de température de 2 à 4° pendant que le pouls s'accélère. Aux doses toxiques la température s'abaisse quand la circulation se ralentit.

La température, sous l'action de la pilocarpine, s'élèverait au début pour s'abaisser ensuite un peu au-dessous du degré initial, aussi bien chez le fébricitant que chez l'homme sain. Mais il n'y a rien de constant sous ce rapport.

La nicotine assez bien étudiée dans ses effets sur le système nerveux et la circulation, ne l'est point du tout, que je sache, quant à ses effets sur les phénomènes chimiques de la respiration ou de la nutrition.

Je rapporte dans le tableau IV les résultats de quelques expériences types que j'ai faites avec ces substances.

TABLEAU IV.

Action du chlorhydrate d'atropine, de pilocarpine et de nicotine. La durée de l'agitation des flacons est de 30 minutes. L'O^2 absorbé et le CO^2 dégagé sont calculés pour 100 grammes de tissu.

Tissu	Liquide	Atropine, pilocarpine ou nicotine	O^2 absorbé	CO^2 dégagé
1. Muscle de bœuf	Na^2CO^3 5/1000 + Na^2HPO^4 4/1000	—	86	110
»	»	Atropine 1/3000	82	99
»	»	» 1/1000	86	99
»	»	Pilocarpine 1/3000	84	107
»	»	» 1/1000	96	115
2. Muscle de bœuf	»	—	74	107
»	»	Atropine 1/3000	71	110
»	»	» 1/1000	67	107
»	»	Pilocarpine 1/3000	72	110
»	»	» 1/1000	67	107
3. Muscle de bœuf	Na^2CO^3 5/1000 + sang de bœuf	—	156	127
»	»	Atropine 1/1000	130	102
»	»	» 2/1000	136	110
»	»	Pilocarpine 2/1000	103	132

Tissu	Liquide	Atropine, pilocarpine ou nicotine	O^2 absorbé	CO^2 dégagé
4. Muscle de bœuf	Na^2CO^3 5/1000 + sang de bœuf	—	135	110
"	"	Nicotine 1/1000	140	107
"	"	" 2/1000	132	102
5 Muscle de bœuf	Na^2CO^3 5/1000 + Na^2HPO^4 2/1000	—	120	110
"	"	Nicotine 2/1000	118	110
"	"	" 5/1000	107	99
6. Muscle de bœuf	Na^2CO^3 5/1000 + sang de bœuf	—	119	82
"	"	Nicotine 1/2000	135	99
"	"	" 2/1000	132	99
7 Muscle de cheval	Na^2CO^3 5/1000 + Na^2HPO^4 2/1000	—	116	110
"	"	Atropine 1/1000	125	132
"	"	" 3/1000	133	140
"	"	Nicotine 1/1000	109	123
"	"	" 3/1000	122	123
8. Muscle de chien	Na^2CO^3 2,5/1000 + sangs de chien et de bœuf	—	224	140
"	"	Atropine 1/1000	198	132
"	"	" 3/1000	133	107
"	"	Nicotine 1/1000	204	148
"	"	" 3/1000	183	153
9. Muscle de chien	"	—	112	90
"	"	Atropine 1/1000	90	82
"	"	" 3/1000	66	74
"	"	Nicotine 1/1000	112	99
"	"	" 3/1000	105	82
10 Muscle de pigeon	Na^2CO^3 5/1000 + Na^2HPO^4 4/1000	—	253	429
"	"	Atropine 2/1000	233	396
"	"	Pilocarpine 2/1000	267	429
"	"	Nicotine 2/1000	231	363
11. Muscle de pigeon	"	—	380	340
"	"	Atropine 1/1000	345	310
"	"	Pilocarpine 1/1000	340	300
"	"	Nicotine 1/1000	390	340

Tissu	Liquide	Atropine, pilocarpine ou nicotine	O^2 absorbé	CO^2 dégagé
12. Muscle de pigeon	Na^2CO^3 5/1000 + Na^2HPO^4 4/1000	—	290	300
»	»	Atropine 1/1000	240	280
»	»	Pilocarpine 1/1000	250	270
»	»	Nicotine 1/1000	290	300
13. Muscle de pigeon	»	—	180	198
»	»	Atropine 1/2000	180	214
»	»	» 1/1000	165	198
»	»	» 2/1000	154	198
»	»	Pilocarpine 1/1000	170	182
»	»	» 2/1000	167	190

Les expériences du tableau IV montrent que l'action de l'atropine, de la pilocarpine et de la nicotine sur la respiration des muscles est très peu marquée. Même à la concentration de 2 pour 1000 ces alcaloïdes ne font pas diminuer d'une manière constante et bien appréciable les échanges gazeux musculaires.

Les considérations que j'ai faites à propos de l'antipyrine et du pyramidon peuvent aussi s'appliquer à l'action de ces alcaloïdes *in vivo*. L'influence qu'ils exercent sur la température du corps ne doit pas être attribuée à une action directe sur les oxydations internes des tissus.

VI. — Action du chlorhydrate de caféine, de morphine et de cocaïne.

D'après des expériences faites sur le chien, la caféine à faibles doses resterait sans influence sur la température. A doses moyennes la température s'élèverait de quelques dixièmes de degré. A doses élevées l'élévation pourrait atteindre 1°,5 (température rectale). Mais ces résultats ne sont pas constants (1). Chez l'homme on aurait obtenu des résultats opposés. Sous l'influence de la caféine l'excrétion de CO^2 augmenterait.

La température est peu modifiée par la morphine; l'action serait nulle dans les maladies fébriles. A l'état normal il y aurait élévation de la température avec de faibles doses, pendant que la pression s'élève. Les fortes doses qui abaissent la pression sanguine donneraient un abaissement de la température. Les doses toxiques provoqueraient un abais-

(1) Ribaut : Société de thérapeutique, 14 mars 1900.

sement notable et très rapide. La morphine ralentirait les échanges organiques chez l'homme. L'animal endormi absorberait moins de O^2 et exhalerait moins de CO^2.

La cocaïne aurait le pouvoir de retarder les fermentations sans, toutefois, arriver à détruire les ferments. Injectée à l'animal elle provoquerait une augmentation de la température qui représente un processus fébrile dépendant exclusivement du système nerveux. (U. Mosso, *loc. cit.*). La cocaïne, à une dose suffisante, agirait comme poison sur tous les protoplasmas vivants avec lesquels elle entre en contact.

Je rapporte, dans le tableau ci-dessous, une partie des expériences que j'ai faites avec ces trois alcaloïdes.

TABLEAU V.

Action du chlorhydrate de caféine, de morphine et de cocaïne. La durée d'agitation des flacons est de 30 minutes. L'O^2 absorbé et le CO^2 dégagé sont calculés pour 100 grammes de tissu.

Tissu	Liquide	Caféine, morphine ou cocaïne		O^2 absorbé	CO^2 dégagé
1. Muscle de bœuf	Sang de bœuf	—		203	173
»	»	Caféine	2/1000	200	173
2. Muscle de bœuf	Na^2CO^3 5/1000 + Na^2HPO^4 2/1000	—		133	123
»	»	Caféine	1/1000	123	107
»	»	»	2/1000	120	110
»	»	Morphine	1/1000	140	130
»	»	Cocaïne	1/3000	150	130
»	»	»	1/1000	145	110
3. Muscle de bœuf	»	—		120	110
»	»	Caféine	2/1000	133	107
»	»	»	5/1000	125	82
»	»	Morphine	1/1000	125	117
»	»	Cocaïne	2/1000	100	90
4. Muscle de cheval	Sang de bœuf	—		120	135
»	»	Caféine	2/1000	150	147
5. Muscle de cheval	Na^2CO^3 5/1000 + Na^2HPO^4 2/1000	—		116	110
»	»	Cocaïne	1/1000	122	115
»	»	»	2/1000	118	110

Tissu	Liquide	Caféine, morphine ou cocaïne		O^2 absorbé	CO^2 dégagé
6. Muscle de chien	Na^2CO^3 5/1000 + sangs de bœuf et de chien	—		224	140
"	"	Caféine	1/1000	190	123
"	"	"	3/1000	176	123
7. Muscle de pigeon	Na^2CO^3 5/1000 + Na^2HPO^4 4/1000	—		380	340
"	"	Caféine	1/1000	390	330
"	"	Morphine	1/1000	335	310
"	"	Cocaïne	1/1000	325	295
8. Muscle de pigeon	"	—		290	290
"	"	Caféine	2/1000	280	300
"	"	Cocaïne	1/2000	300	280
"	"	Morphine	1/1000	290	300
9. Muscle de pigeon	"	—		253	229
"	"	Caféine	2/1000	231	230
"	"	Cocaïne	2/1000	220	210
"	"	Morphine	2/1000	243	209
10. Muscle de pigeon	"	—		315	290
"	"	Caféine	1/1000	290	305
"	"	Cocaïne	1/1000	300	300
"	"	Morphine	1/1000	280	290

Comme on le voit dans le tableau V, la morphine, la caféine et la cocaïne n'exercent pas une action bien appréciable sur la respiration des muscles isolés, soit des mammifères, soit du pigeon.

Il semble donc logique d'admettre, conformément à la doctrine classique, que ces alcaloïdes produisent leurs effets par l'intermédiaire du système nerveux.

VII. — Conclusions.

1° La quinine et le salicylate de soude diminuent, à des concentrations relativement faibles, l'intensité des échanges gazeux des muscles isolés. Cette diminution est peu intense pour les muscles de mammifères; elle est bien marquée, au contraire, pour les muscles de pigeon.

2° L'antipyrine et le pyramidon n'entravent les phénomènes respiratoires des muscles isolés qu'à des concentrations élevées.

3° On peut admettre que l'abaissement de température produit par la quinine et surtout par le salicylate de soude dans la fièvre soit dû en partie à une action directe de ces substances sur l'intensité des oxydations dans les tissus. Au contraire, l'influence antipyrétique de l'antipyrine et du pyramidon ne pourrait pas être attribuée à une intervention directe de ces substances dans le mécanisme de la respiration tissulaire.

4° Les alcaloïdes : atropine, pilocarpine, nicotine, morphine, caféine et cocaïne n'exercent pas une action appréciable sur la respiration des muscles isolés.

Laboratoire de Pharmacodynamie et de Thérapeutique
de l'Université de Liège
Directeur, Prof. Henrijean.

De l'Influence des sels de mercure sur la leucocytose et sur la formule leucocytaire

PAR

le Dr F. LISIN.

Considérations préliminaires.

L'introduction dans l'organisme, que ce soit par voie sous-cutanée ou par voie intraveineuse de toute substance médicamenteuse, toxique ou inerte, provoque une réaction leucocytaire.

Dans leur ensemble, les réactions ainsi provoquées sont assez comparables; leur *évolution* peut, comme dans les infections, être divisée en plusieurs phases, plus ou moins bien tranchées : hypoleucocytose, hyperleucocytose polynucléaire, mononucléose, éosinophilie. Cependant cette réaction de l'organisme n'est pas identique pour chaque substance; les unes auraient pour rôle de produire surtout une polynucléose, tandis que d'autres donneraient plutôt une mononucléose, d'autres une éosinophilie caractéristique, témoins les toxines helminthiasiques.

Au point de vue du *nombre*, les variations dépendent de la dose injectée et de sa virulence : l'injection de doses non mortelles amènera de l'hyperleucocytose; une dose mortelle créera l'état d'hypoleucocytose, traduisant l'impossibilité de réaction.

Il en va donc à peu près de même que dans beaucoup d'infections où l'on peut presque baser le pronostic sur l'évaluation du nombre des leucocytes, une hypoleucocytose laissant augurer souvent une issue fatale. Nous avons voulu, dans nos expériences, rechercher l'action spéciale des *sels de mercure* sur le *nombre* des leucocytes et sur les variations possibles de la *formule leucocytaire*.

La question était d'autant plus intéressante, que pour certains auteurs, le mercure, dans la syphilis et autres affections, agirait par

réaction leucocytaire, pour d'autres par action directe sur les microbes et leurs toxines.

Nous lisons, dans le Bulletin de l'Institut Pasteur, t. III, 15 février 1905, que CARAPELLA prépare avec des corps bactériens une microprotéide de laquelle il tire une nucléoprotéide. Il vérifie *in vitro* l'affinité de cette nucléoprotéide pour le chlorure mercurique avec lequel elle forme un vrai albuminate. Ainsi, en conclut-il, s'expliquerait l'action antitoxique *in vivo* du sublimé. C'est aussi de cette façon que se comprendrait, ajoute-t-il, l'utilité des injections intraveineuses de chlorure mercurique, au cours de certaines infections.

STASSANO (Presse médicale 1898) démontre, de son côté, que les sels de mercure sont absorbés par les leucocytes.

Beaucoup d'auteurs, d'ailleurs, ont recherché l'action du mercure sur le sang, mais il n'y en a pas, du moins que nous sachions, qui aient étudié les variations de la formule leucocytaire sous l'influence de ce médicament. C'est donc dans ce but que nous avons entrepris nos expériences.

Technique.

Pour plusieurs motifs, nous avons choisi le lapin comme sujet d'expérience.

D'abord l'animal présente à l'oreille de petits vaisseaux aisément accessibles.

On peut faire chez lui un nombre considérable de prises de sang, sans lui arracher un cri, sans qu'il fasse un mouvement; il est d'un maniement facile; on n'est pas obligé de le fixer sur une gouttière pendant l'expérience. Le sang était recueilli à la veine marginale de l'oreille.

Au niveau de l'incision, les poils étaient soigneusement arrachés, le point à inciser était lavé et sèché à l'alcool puis à l'éther. Pour rendre la circulation plus intense dans l'oreille, c'est-à-dire pour que les veines y deviennent plus saillantes, on la broyait délicatement entre les doigts.

La piqûre de la veine était faite d'un trait avec un petit scalpel pointu, stérilisé : la plaie était minime. Les 2 ou 3 premières gouttes, qui s'en écoulaient, étaient essuyées et rejetées.

Pour la numération des leucocytes, nous recueillions dans la pipette de l'appareil de THOMA (Zeiss, Jéna) la quantité de sang indiquée et nous en faisions la dilution au moyen de la solution aqueuse d'acide acétique à 1 p. 150.

Après avoir agité la pipette pendant 2 ou 3 minutes, on dépose sur la plaque graduée une goutte du mélange et on recouvre d'une lamelle : On attend la sédimentation complète.

La plaque quadrillée est modifiée en ce sens qu'elle comporte 5 carrés dont un central et de 1 mlm. chacun de côté.

Les leucocytes ainsi traités, apparaissent sous l'objectif comme des petits cercles noirs très caractéristiques et bien reconnaissables.

On fait donc la numération de tous les globules blancs qui se trouvent régulièrement répartis sur les cinq carrés, la somme est multipliée par 20 ce qui donne — très exactement — le nombre de leucocytes par mlm^3.

Le coefficient 20 se décompose comme suit :

On multiplie par 10 pour compenser la dilution au $1/10^2$ On devrait ensuite multiplier par 10, si on tient compte de ce fait que la couche liquide sur le porte-objet n'a que 1/10 mlm. d'épaisseur; mais comme la numération porte sur 5 mlm^2 au lieu de 1, on doit multiplier par 10/5 ou 2.

Pour établir le formule leucocytaire du sang de l'animal, nous recueillons sur des porte-objets propres, c'est-à-dire lavés à l'alcool-éther, une goutelette de sang au moment où elle sourd de la plaie. Nous l'étalons immédiatement à l'aide d'un autre porte-objet à bords non rodés mais bien rectilignes, puis nous agitons activement la 1re lamelle pour sècher la préparation en quelques secondes et éviter les rétractions ou l'altération des éléments.

La plaie est tamponnée et le lapin resté calme et impassible est replacé dans une cage à côté de l'opérateur, jusqu'à l'expérience suivante : de la sorte, il est très peu manipulé et se trouve, tout le temps, dans des conditions de température constante.

Les préparations de sang sont fixées dans une étuve sèche, à la température constante de 112° c., pendant une heure. On les colore ensuite au mélange triacide d'Ehrlich et les examine à l'immersion 1/12.

Avant l'expérience, l'animal est astreint à un jeûne de 24 heures, de sorte que dans nos numérations nous avons ainsi évité, dans la mesure du possible, les variations leucocytaires de la digestion.

Expériences.

Je tenais, avant tout, à rechercher à mon tour quelles seraient bien les variations leucocytaires d'un jour à l'autre chez le même lapin et quelles étaient les limites et la moyenne de la formule qualitative.

Courmont et Montagnant (v. Traité d'hématologie Bezançon et Labbé) donnent des variations de 8.500 à 10.900. Bezançon et Labbé croient qu'elles sont encore plus étendues.

Comme formule leucocytaire Tallqvist et Villebrand donnent :

Polynucléaires neutrophiles	45-55 %
» éosinophiles	05-3 »
Grands mononucléaires et transitions	20-25 »
Lymphocytes	20-20 »
Mastzellen	2-5 »

WEIL s'en rapproche beaucoup mais simplifie :

Polynucléaires	50-65 %
Mononucléaires	48 »
Eosinophiles	2 à 4 »

Nous avons suivi la numération pendant plusieurs jours chez le même animal et nous trouvons :

Lapin nº 1, gris, 2.200 kg., jeûne de 24 heures.

7	novembre,	17 heures 30	7.040	leucocytes p. mlm.[3]
9	id.	16 heures 30	6.220	id.
11	id.	17 heures	9.020	id.
26	id.	15 heures 30	8.600	id.

La formule leucocytaire établie sur 600 leucocytes donne :

	7.040	6.220	9.020	8.600
Mastzellen	6.14	8.44	12	8.10
Eosinophiles	1.58	1.84	3.57	2.31
Grands mononucléaires	5.61	2.15	2.28	2.44
Lymph. et petits mononucléaires	41.23	55.45	37	47.20
Polynucl. neutroph.	45.44	32.12	45.15	39.95

Si nous prenons une moyenne, nous avons 7.745 et comme formule :

Mastzellen	8.67
Eosinophiles	2.33
Grands mononucléaires	3.12
Lymphocytes	45.22
Polynucléaires neutroph.	40.66

Lapin nº 2, noir et blanc, 2.800 kg., jeûne de 24 heures.

18	novembre,	à 16 heures 30	10.620	leucocytes.
20	id.	à 17 heures 30	8.520	id.
22	id.	à 17 heures 15	10.680	id.
30	id.	à 15 heures 30	14.000	id.

C'est-à-dire ici une moyenne de 10.955.

La formule leucocytaire, établie sur 600, donne :

	10.620	8.520	10.680	14.000
Mastzellen	2.25	3.15	3.45	3.10
Eosinophiles	4.07	2.40	4.17	3.20
Grands mononucléaires	5.55	2.05	2.55	2.34
Lymphocytes	53.88	55.05	59.40	51.69
Polynucléaires neutroph..	34.25	37.35	30.45	39.67

En moyenne sur 10.955 :

Mastzellen	2.98
Eosinophiles	3.46
Grands mononucléaires	3.13
Lymphocytes	55.
Polynucléaires neutroph.	35.43

Nous pouvons ici conclure que les variations physiologiques chez le lapin s'étendent de 6.000 à 14.000 et qu'au point de vue de la formule elles sont :

Mastzellen	2	à	12 0/0
Eosin.	1.5	à	4 »
Grands mononucléaires	2	à	5 »
Lymphoc.	37	à	60 »
Polynucl. neutr.	32	à	45 »

Nous nous sommes servis dans nos expériences de différents sels de mercure, les uns solubles, comme le bichlorure, le benzoate, le sulfate basique, un autre insoluble, le calomel, mais ce dernier a été introduit par voie sous-cutanée.

Les 1ers, en injection intraveineuse, étaient dissouts au préalable dans une quantité déterminée de sérum physiologique (7 0/00). Il était par conséquent nécessaire avant tout de savoir quelle serait, sur la leucocytose, l'action du sérum physiologique en injection dans les veines.

Expérience 1.

Lapin nº 1 (v. plus haut, le 12-12-04).

Date	Heure	Nombre de leucocytes
12-12-04	14.45'	5.960
»	15.55' ⟶ injection	—
»	16.15'	4.420
»	17.25'	6.640
»	18.15'	6.880
»	18.45'	8.260
13-12-04	16.15'	5.620

Formule leucocytaire faite sur une numération de 500 leuc.

	5.960	4.420	6.640	6.880	8.260	5.620
Mastzellen	7.10	8.40	6.30	7.60	6.40	6.30
Eosinophiles	2.20	1.80	1.80	2.70	4.16	3.20
Grands mononucléaires . . .	4.30	6.10	6	4.10	3.70	4.40
Lymph. et pet. mononucléaires	48.40	48	40	43	47	46.80
Polynucl.	38.—	36.60	45.90	42.60	38.74	41.30

On ne constate guère de modifications au point de vue du nombre des leucocytes, on remarque une légère polynucléose consécutive à l'injection.

Expérience 2.

Lapin 2. — Injection intraveineuse de 6 c.c. de sérum physiologique à 7 p. 1000.

Date	Heure	Nombre de leucocytes
8-12-04	14.10'	8.420
»	15.30' ←— injection	
»	16.10'	6.900
»	18	11.140
»	18.30'	11.380
9-12-04	17	8.140

La formule leucocytaire sur 500 donne :

	8.420	6.900	11.140	11.380	8.140
Mastzellen	3.25	3	3.30	3.20	3.10
Eosinophiles	2.30	1.50	1.70	1.35	3.40
Grands mononucléaires	2.10	4.50	4	3.15	2.40
Lymph. et petits monon.	55.15	58.20	56.10	51.20	54.70
Polynucl. neutroph.	37.20	32.80	35.40	41.10	36.40

Dans cette seconde épreuve, nous voyons qu'après l'injection le nombre de leucocytes a passagèrement augmenté mais la formule leucocytaire ne s'est pas manifestement modifiée. On ne peut même pas parler

de polynucléose comme dans l'expérience n° 1 où elle n'était vraiment qu'ébauchée.

Nous avons ensuite fait des injections de *bichlorure de mercure* en solution dans NaCl à 7 °/₀₀, solution au titre de 1 p. 10.000 de sorte que 1/10 milgr. de sublimé correspond à 1 c.c. de solution.

Expérience 1.

Injection dans une veine auriculaire de 3/20 mlgr. de $HgCl_2$.

Date	Heure	Nombre de leucocytes
28-11-04	15.30'	8.700
»	16. ⟶ injection	—
»	16.20'	7.100
»	17.15'	11.600
»	18	8.360
»	18.30'	10.480
29-12-04	17	7.600
»	18.15'	9.920

La formule leucocytaire sur 600 est la suivante :

	8.700	7.400	11.600	8.360	10.480	7.600	9.920
Mastzellen	6.40	5.30	7.80	7.80	7.40	6.10	6.30
Eosinophiles	3.10	2.90	3.80	3	4.20	4.10	4.10
Grands mononucléaires. . . .	4.80	4.30	3.30	3.60	3.40	3.60	3.85
Lymphocytes	59.60	57.10	46.40	48.20	43.10	49.30	50.10
Polynucléaires	36.10	30.40	38.70	37.40	41.90	36.90	35.65

En résumé, nous avons après l'injection, une hypoleucocytose suivie d'une légère hyperleucocytose avec augmentation des polynucléaires, le lendemain tout est rentré dans la normale, peut-être y-a-t-il quelques éosinophiles en plus pour 100.

Expérience.

Lapin n° 1. — Injection dans une veine auriculaire de 4/10 mlgr. de Hg Cl^2 à 16 h. 35'.

Date	Heure	Nombre de leucocytes
20-12-04	16.15'	8.400
»	16.35' ⟶ injection	—
»	17.5'	5.080
»	18.5'	6.525
»	18.40'	7.920
»	20.40'	13.880
21-12-24	12.15'	7.720

La formule sur 600 a donné :

	8.400	5.080	6.625	7.920	13.880	7.720
Mastzellen	5.10	4.50	4.50	5.30	6.25	5.40
Eosinophiles	2.80	2.80	2.60	3.10	4.20	4.60
Grands mononucléaires . . .	4.10	4.60	4.70	4	3.10	3.50
Lymph. et pet. mononucléaires	55.30	64.60	62.10	51.70	44.20	49.70
Polynucl. neutr.	32.70	23.50	26.10	35.90	42.25	36.80

Expérience.

Lapin n° 2. — Injection intraveineuse de 9/10 mlgr. de chlorure mercurique à 16 h. 55'.

Date	Heure	Nombre de leucocytes
1-12-04	15.30'	14.000
»	16.20'	11.060
»	16.55' ⟶ injection	-
»	17.15'	8.220
»	17.50'	11.400
»	18.30'	10.960
»	19	13.000
2-12-04	16.30'	8.980

La formule sur une numération de 600 a donné dans ce cas :

	14.000	11.060	8.220	11.400	10.960	13.000	8.980
Mastzellen	2.50	2.30	2.60	4.20	3.10	4.10	2.30
Eosinophiles	4.20	3.40	3.30	4.40	4.10	5.80	4.70
Grands mononucléaires	3.60	4	5.20	4.10	2.40	2.70	3.20
Lymphocytes	50.40	50.10	58.80	52.40	46.20	41.70	48.40
Polynucléaires neutr.	39.30	40.20	30.10	34.90	44.20	55.70	41.40

Dans ces deux dernières expériences nous avons encore une hypoleucocytose suivant de près l'injection, mais rapidement remplacée par une hyperleucocytose plus ou moins notable et caractérisée par de la polynucléose. Les mononucléaires, qui à ce moment étaient un peu moins nombreux, ont bientôt repris le dessus. Les éosinophiles ne subissent pas grand changement.

Expérience 2.

Lapin n° 2. — Injection de 4/10 mlgr. de sublimé en solution à 11 h. 25'.

Date	Heure	Nombre de leucocytes
16-12-04	11.10'	8.920
»	11.25' ⟶ injection	—
»	12.5'	6.460
»	12.55'	5.760
»	14.45'	13.340
»	16.15'	14.900
»	17.15'	9.865
»	18.25'	12.720
17-12-04	14.45'	8.720

Nous assistons ici à une hyperleucocytose assez marquée, c'est-à-dire dépassant de 6000 le chiffre initial. Le lendemain le nombre était revenu à sa normale.

Si nous en recherchons la formule variée, sur 600, nous aurons :

	8.920	6.460	5.760	13.340	14.900	9.865	12.720	8.720
Mastzellen	3.20	2.80	2.70	3.30	4.60	4.50	4.40	2.60
Eosinophiles	3.70	3.80	3.40	4.60	3.40	4.70	5.60	4.20
Grands mononucléaires . .	4.30	4.90	5.20	3.40	3.20	3.20	3.70	4.10
Lymph. et petits mononucl. .	48.70	49.20	54.10	46.20	44.80	40.50	40.30	46.70
Polynucl. neutr.	40.10	39.30	34.60	38.50	44	47.10	46	42.40

Sitôt après l'injection, le pourcentage des mononucléaires augmente alors que les neutrophiles diminuent, pour reprendre bientôt un taux plus élevé lors de l'hyperleucocytose. Les éosinophiles, à la fin, étaient un peu augmentés.

Après 24 heures, l'ordre initial était rétabli.

Expérience.

Lapin n° 2. — Oedème des oreilles. Injection intrav. de 1/70 mlgr. de chlorure mercurique.

Date	Heure	Nombre de leucocytes
22-12-04	17.5'	16.200
»	17.15' ⟶ injection	—
»	18.5'	13.520
»	18.45'	17.880
»	20.20'	10.380
23-12-04	14.30'	17.700

La formule n'a été établie que sur 400 :

	16.200	13.520	17.880	10.380	17.700
Mastzellen	2.60	2.50	2.30	3.10	2.30
Eosinophiles	3.40	3.10	3.20	3	2.60
Grands mononucléaires	2.60	2.90	3.10	2.40	2.10
Lymphocytes	38	41.90	36.60	34.80	16.60
Polynucléaires neutrophiles.	53.40	49.60	54.80	56.70	76.40

Malgré l'injection d'une dose relativement considérable de sublimé, le nombre de leucocytes, de même que la formule leucocytaire semblent peu influencés. Seulement, comme nous l'avons noté précédemment, les oreilles étaient fortement œdématiées : d'ailleurs l'élément polynucléaire (neutrophile) est ici très abondant et indique un travail de défense très actif, trop actif que pour être troublé par le produit injecté, de plus, le lendemain 23-12-04, la polynucléose était excessive et dûe sans doute à une infection.

Expérience.

Lapin nº 3. — Injection intraveineuse de 3/10 mlgr. de sublimé dissous dans 1 c c. de serum physiologique

Date	Heure	Nombre de leucocytes
6-1-05	12	10.600
»	12.15' ⟶ injection	—
»	12.45'	10.580
»	14.45'	11.850
»	16.15'	10.800
»	18.30'	11.560
7-1-05	14.30'	10.520

Le nombre des leucocytes n'est guère, ou pas modifié :

	10.600	10.580	11.850	10.800	11.560	10.520
Mastzellen	3.80	3.50	3.20	4.10	3.60	3.60
Eosinophiles	2.70	2.50	2	5.20	3.20	3.30
Grands mononucléaires . . .	4.10	5.70	4.10	3.50	3.40	3.40
Lymphocytes	45.60	49.70	40.40	36.70	37.80	39.40
Polynucléaires neutrophiles .	43.60	38.60	50.30	50.50	52.00	50.30

Bien que le nombre de leucocytes soit resté stationnaire, nous assistons à une polynucléose nette et persistante cette fois-ci.

Expérience.

Lapin nº 4. — Albinos. Poids 2.150 kgr. Injection intraveineuse de 10/10 mlgr. de sublimé.

Date	Heure	Nombre de leucocytes
20-1-05	12	10.450
»	12.15' ⟶ injection	—
»	12.45'	6.800
»	14.45'	12.620
»	16.45'	9.520
»	18.25'	10.440
»	20.25'	15.440
21-1-05	9.10'	11.920

Après la phase d'hypoleucocytose, ici encore très nettement marquée, les leucocytes reviennent à la normale et finissent par la dépasser de 5000 environ, ce qui est assez considérable, vu que le nombre normal de leucocytes chez le lapin est assez élevé.

La formule — numération de 500 à 600 — donne une minime et passagère variation en plus des polynucléaires, une augmentation légère des éosinophiles, à la fin de l'expérience et le lendemain.

	10.450	6.800	12.620	9.520	10.440	15.440	11.920
Mastzellen	2.70	2.80	2.30	2.60	3.10	3.40	3
Eosinophiles	3.80	3.30	2.80	2.60	3.10	4.30	5.70
Grands mononucléaires . .	3.20	4.20	4.80	3.70	2.90	2.20	3.50
Lymphocytes	54.20	55.60	53.20	52.10	55.40	50.30	51.60
Polynucléaires	36.10	34.10	36.90	39	35.50	39.80	36.20

Expérience.

Lapin nº 5. — Poids 1.890 kgr. Injection intraveineuse de 5/10 mlgr. de *benzoate de mercure.*

Date	Heure	Nombre de leucocytes
2-2-05	11.30'	6.500
»	11.45' ⟶ injection	—
»	12.30'	9.760
»	15.30'	6.520
»	18.45'	6.500

Avec cette dose de médicament, nous ne pouvons pas dire avoir obtenu une modification dans le nombre de leucocytes; peut-être y-a-t-il en légère hyperleucocytose lors de la 2e prise; c'est assez difficile à dire. D'ailleurs la formule leucocytaire, sur 400 leucocytes, est restée la même.

	6.500	9.760	6.520	6.500
Mastzellen	8	10.10	11.40	9.30
Eosinophiles	2.80	2.70	3.10	2.50
Grands mononucléaires	4.70	3.60	3.50	3
Lymphocytes	48.80	51.20	48.70	46.50
Polynucléaires neutrophiles	35.70	32.40	33.30	38.70

Expérience.

Lapin nº 5. — Injection intraveineuse de 10/10 mlgr. de sulfate mercurique basique en solution dans 2 1/2 c.c. de sérum.

Date	Heure	Nombre de leucocytes
21-2-05	15	8.950
»	15.10' —→ injection	—
»	15.45'	4.700
»	17.5'	12.870
»	18	11.940
»	18.45'	6.100

Dans cette expérience, nous obtenons nettement les 2 phases successives d'hypoleucocytose, d'hyperleucocytose; et 4 heures au maximum après l'injection tout est revenu à son point de départ.

Comme formule leucocytaire de l'expérience nous trouvons (sur 600 leucocytes) :

	8.950	4.700	12.880	11.940	6.100
Mastzellen	10	12.30	17.75	19.78	12
Eosinophiles	3	4	4.75	4.22	5.25
Grands mononucléaires	4.25	3.70	3.25	3.32	3.50
Lymphoc. et petits mononucléaires . .	47.25	39.33	34.50	29.10	32.75
Polynucléaires neutrophiles	37.50	40.70	39.75	43.58	46.50

Transitoirement et parallèlement à l'hyperleucocytose, le nombre de mastzellen augmente dans des proportions rares, pour cette forme de leucocyte du moins.

Les éosinophiles sont plutôt augmentés, à la fin de l'expérience. Il en est de même des polynucléaires.

Expérience.

Lapin nº 6. — Injection intraveineuse de 15/10 mlgr. de benzoate de mercure.

Date	Heure	Nombre de leucocytes
3-2-05	12.20'	7.300
»	12.30' ⟶ injection	—
»	12.55'	6.120
»	14.40'	8.075
»	16.45'	10.700
»	18.30'	10.400
»	20.10'	12.160
4-2-05	12.5'	7.500

Ici comme dans l'avant-dernière expérience précédente, nous avons avec la même substance, cette même phase d'hypoleucocytose assez marquée ici, plus marquée que dans l'autre, ce qui vraisemblablement est dû à l'emploi d'une dose un peu plus notable.

Formule leucocytaire de cette expérience (sur 600).

	7.300	6.120	8.075	10.700	10.400	12.160	7.500
Mastzellen	4.20	3.40	4.70	5.20	5.30	3.10	2.20
Eosinophiles	2.30	2.30	3.40	2.50	2.80	2.90	4.80
Grands mononucléaires . . .	4.20	4.60	5.10	4.20	3.10	8.20	3.50
Lymphocytes	42.50	46.70	48.50	43.40	39.20	36.80	40.60
Polynucléaires neutrophiles . .	46.80	43	38.30	44.70	49.60	54.00	48.90

Nous assistons encore à une hyperleucocytose avec polynucléose suivie d'une augmentation légère des éosinophiles.

Il nous avait paru intéressant d'expérimenter avec des sels de mercure non solubles. Il ne fallait pas songer à les injecter directement dans les vaisseaux, aussi avons-nous étudié les variations leucocytaires

après injections sous-cutanées en suspension dans la paraffine liquide. Nous avons employé à ce sujet, le calomel, à la dose de 2 ctgr. répétée. Les variations ayant été nulles, nous n'avons pas poursuivi dans cette direction.

Expérience.

Lapin nº 7. — Poids 2.500 kgr. Injection de 2 ctgr. de calomel dans 2 c.c. de paraffine liquide.

Date	Heure	Nombre de leucocytes
21-3-05	14.30'	3.160
22-3-05	12	3.800
»	12.15' →	2 ctgr. de calomel
23-3-05	16	5.620
24-3-05	16	3.800
25-3	16	3.500
27-3	12	5.100
4-4-05	16	7.660
»	16.10' →	2 ctgr. de calomel
»	17.30'	7.360
5-4-05	12.35'	7.740
6-4-05	15.20'	8.380
7-4-05	12.30'	8.075
8-4-05	9.15'	7.142

Formule leucocytaire sur 500, chaque fois.

	3.860	3.800	5.620	3.800	3.500	5.100	7.660	7.360	7.740	8.380	8.075	7.142
Mastzellen	9.5	10	3.5	5.10	7.5	6	9.9	12.1	9.6	14.40	10.80	6.80
Eosinophiles	1.5	2	2	3.6	2.5	4	2.40	4.20	5.40	1.60	1	1.20
Grands mononucléaires .	7.5	5.5	3	10.5	5	7	6.80	4.6	4	5.20	2.40	2.80
Lymphocytes	65.5	65.5	72	63	70	68	61.2	55.5	58.4	64.80	69.60	74.40
Polynucléaires neutroph.	16	16.5	19.5	17.9	15	25	19.7	21.8	22.6	14	16.20	14.80

↑ Injection (avant 5.620) ↑ Injection (avant 7.360)

Nous voyons ainsi, qu'après les injections de calomel, c'est-à-dire d'un sel insoluble, le sang ne subit que bien peu de modifications dans ses leucocytes.

On ne peut dire que le nombre des globules blancs s'est modifié sous l'influence de ce sel de mercure, tant les variations sont légères et lentes.

Ainsi avant et après la 2e injection de 2 ctgr. de calomel, le nombre de leucocytes reste aux environs de 7000.

De plus, la formule leucocytaire ne s'est montrée que peu influencée par l'injection : la seule modification qu'on peut y voir, c'est que les leucocytes mononucléaires ont une tendance à devenir plus nombreux.

Dans les expériences avec les sels solubles, introduits par voie intraveineuse, on avait au contraire une réaction leucocytaire très nette, très rapide avec prédominance des polynucléaires; ce fait tient, probablement, au passage plus ou moins rapide du médicament dans le sang.

En effet, l'injection intraveineuse introduit le toxique en masse et d'un coup dans le sang, et l'organisme, pour s'en débarrasser à bref délai, envoie dans la circulation un surcroît déterminé de polynucléaires; c'est d'ailleurs ce qu'on rencontre dans la plupart des maladies aiguës.

Si dans ce dernier cas, la leucocytose est proportionnelle — endéans certaines limites, avons nous vu — au degré plus ou moins sérieux de l'infection, on pourrait, à la rigueur, rechercher et graduer la virulence ou la toxicité d'un produit quelconque, rien que par la réaction leucocytaire qu'il provoquerait en injections intraveineuses.

En injections sous-cutanées, au contraire, le médicament se résorbe lentement et ne risque plus de devenir un danger pour l'organisme; c'est alors que les lymphocytes entrent en jeu.

Un autre fait, qui s'est la plupart du temps manifesté et avec plus ou moins de netteté, c'est cet état d'hypoleucocytose consécutif à l'injection. Quand nous ne l'avons pas rencontré, c'est que la prise du sang correspondante était faite trop longtemps après l'injection.

En effet, ce phénomène était excessivement passager et ne durait en moyenne que 15 à 30 minutes.

A la fin de l'expérience ou plus souvent le lendemain, nous retrouvions la formule presque revenue à la normale, les éosinophiles étaient encore légèrement augmentés en nombre et les polynucléaires n'étaient pas tout à fait redescendus à leur pourcentage initial. Très souvent les mastzellen ont été influencées par l'injection, en ce sens que au stade d'hyperleucocytose, elles étaient augmentées de 3 à 4 %.

Si nous voulons formuler les conclusions à tirer de ces expériences, nous dirons que :

1° Chez le lapin : les variations leucocytaires physiologiques vont de 6.000 à 14.000.

2° La formule leucocytaire varie dans les limites suivantes :

Mastzellen	2 à 12 °/o
Eosinophiles.	1,5 à 4 »
Grands mononucléaires	2 à 5 »
Lymphocytes et petits mononucléaires.	37 à 60 »
Polynucléaires neutrophiles	32 à 45 »

3° Les injections intraveineuses d'un sel soluble de mercure à doses thérapeutiques, exercent sur la leucocytose les mêmes réactions que toute autre substance médicamenteuse toxique ou inerte. En effet, nous avons obtenu les stades suivants : hypoleucocytose, hyperleucocytose avec polynucléose, éosinophilie.

4° Les injections sous-cutanées de calomel ont peu d'influence sur la leucocytose : elles provoquent une légère mononucléose.

5° Le mercure n'agit vraisemblablement pas en provoquant une réaction particulière, spécifique de la leucocytose.

Est-ce à dire pour cela que les propriétés phagocytaires des leucocytes ne sont pas influencées, c'est-à-dire augmentées ? D'autre part, le mercure ne pourrait-il pas agir en faveur du pouvoir opsonique spécifique du sérum ?

Son action enfin pourrait être l'équivalente de celle d'autres métaux — argent, or, manganèse — expérimentés tout récemment encore par le Prof. Robin, action qui n'a pu jusqu'à ce jour recevoir une explication plausible. Des expériences dans ces différentes voies nous permettront, je pense, d'arriver plus ou moins rapidement à une solution de ce problème.

Il nous reste l'agréable devoir d'assurer notre gratitude à M. le Professeur Henrijean qui nous a proposé cette étude et nous a guidé par ses conseils; nous adressons aussi nos sincères remercîments à M. le docteur Honoré, assistant à l'Institut, pour le concours dévoué qu'il nous a toujours prêté.

AUS DEM PHARMAKOLOGISCHEN INSTITUT DER KAISERLICHEN UNIVERSITÄT
ZU KYOTO
DIR. PROF. K. MORISHIMA.

Kann die Gelatinemethode zur Wertbestimmung des Trypsins angewendet werden?

VON

DR T. HATTORI
Assistent des Institutes.

Bekanntlich hat die Mett'sche Kapillarmethode sich für die vergleichende Untersuchung der Geschwindigkeit der peptischen Verdauung wegen ihrer raschen Ausführbarkeit und hinreichenden Genauigkeit am meisten bewährt (1).

Obwohl sie als Universalmethode zur Bestimmung aller eiweissverdauenden Fermente empfohlen wurde (2), lässt sie bei der Bestimmung der Trypsinverdauung noch viel zu wünschen übrig. Die Mängel bestehen hauptsächlich in folgenden Punkten :

1. Wenn die Trypsinlösung nicht genügend stark ist, geht die Verdauung des geronnenen Eiweisses so langsam von statten, dass sie nach einem oder zwei Tagen kaum einige Millimeter beträgt.

2. Noch unangenehmer ist die Tatsache, dass die Aufzehrung der Eiweisssäule eine unregelmässige ist. Die verdauten Enden sind bald konisch, bald zackig, sodass von einer genauen Messung keine Rede ist.

3. Nachdem nun FERMI (3) auf die Vorzüge der Gelatine als Testobjekt zum Nachweis tryptischer Enzyme hingewiesen hatte, schug KAUFMANN (4) ein neues Verfahren zur quantitativen Prüfung des Trypsins vor. Dasselbe

(1) Vergl. FUJITANI : Archives internationales de pharmacodynamie et de thérapie, 1905, vol. 14, p. 1.

(2) PAWLOW : *Die Arbeit der Verdauungsdrüsen*, S. 33. Wiesbaden, 1898.

(3) FERMI : Archiv f. Hygiene. 1891. Bd. 12. S. 240.

(4) KAUFMANN : Zeitschrift f. physiologische Chemie, 1903. Bd. 39, S. 446.

ist nur insoweit von der Mett'schen Methode verschieden, als die Kapillare nicht mit Eiweiss, sondern mit Gelatine gefüllt wird. Der Vorteil des neuen Verfahrens gegenüber dem Mett'sche besteht darin, dass die Gelatine gegen Trypsin viel empfindlicher ist, als das geronnene Eiweiss, dass infolgedessen kleine Unterschiede der Fermentwirkung mit Leichtigkeit erkannt werden können, und was noch besonders betont werden muss, dass die Verflüssigung der Gelatine ganz scharf und lineär verläuft.

Obwohl die KAUFMANN'sche Methode somit auf den ersten Blick zur Bestimmung der Trypsinwirkung sehr geeignet zu sein scheint, kann man doch dabei Bedenken erheben, ob man die mit der Gelatine gewonnenen Resultate ohne weiters auf die eiweissspaltende Wirkung des Trypsins übertragen dürfe. Denn, wie die chemische Natur der Gelatine und des Eiweisses verschieden ist, können auch die Vorgänge und Bedingungen bei der Verdauung beider Substanzen verschiedene sein. Dieses Bedenken gewinnt um so mehr an Gewicht, als neulich POLLAK (1) die Behauptung aufgestellt hat, dass im Pankreastrypsin mindestens zwei verschiedene Fermente existieren müssen.

POLLAK konstatierte nämlich, dass das Pankreasferment verschiedener Abstammung, durch von einander abweichende Manipulationen gewonnen, verschiedene verdauende Fähigkeiten gegenüber Pferdeserum und Eiklar und noch mehr gegen Pferdeserum und Gelatine zeigt. Er konnte sogar durch Vorbehandeln des Pankreassaftes mit Salzsäure und nachherige Neutralisation die serumverdauende Eigenschaft desselben auf Null bringen, während die Gelatine durch so behandelten Saft noch ziemlich gut aufgelöst wurde. Andererseits konnte er durch Verdünnen der tryptischen Lösung mit der gleichen, jedoch gekochten und filtrierten Lösung die leimverdauende Kraft gegenüber der serumverdauenden herabdrücken. Er schliesst daraus, dass im Trypsin ein besonderes, spezifisch auf Gelatine wirkendes Ferment « Glutinase » vorhanden sein muss.

Obgleich diese Behauptung von der komplexen Natur des Pankreastrypsins von EHRENREICH (2) kritisiert und in Frage gestellt wurde, verdient sie doch Beachtung bei solchen Fällen, wo der Einfluss irgend einer Substanz auf tryptische Verdauung studiert werden soll. Ich habe es mir deshalb zu meiner Aufgabe gemacht, zu bestimmen, wie weit der Einfluss verschiedener Zusätze zur Trypsinlösung auf die Verdauung beider Testobjekte, Eiweiss und Gelatine, mit einander übereinstimmt.

Die vorliegende Arbeit bildet deshalb gewissermassen eine Erweiterung der POLLAK'schen Arbeit und beschäftigt sich mit der Bestimmung

---

(1) POLLAK : Hoffmeister's Beiträge. 1905. Bd. 6. S. 95.
(2) EHRENREICH : Archiv f. Verdauungskrankheiten. 1905. Bd. 11, S. 261.

der optimalen Sodamenge und des Einflusses einiger Substanzen bei tryptischer Verdauung des Eiweisses und der Gelatine.

In den folgenden Versuchen diente als Ferment das Trypsin von Grübler. Die Konzentration desselben war in allen Fällen 0.2 %. Das Eiklar wurde nach üblicher Weise in Glasröhrchen von etwa 1.5 mm. im Lichten bei einer Temperatur von etwa 95° C koaguliert. Die Gelatine von 1.7 % Aschegehalt wurde in Aqua destillata im Verhältnis von 1 : 10 auf dem Wasserbad aufgelöst, noch warm in Glasröhrchen eingesogen und mehrere Stunden lang in Leitungswasser der Erstarrung überlassen. Die Eiweissverdauung wurde im Brutschrank von 37.8° C und die Gelatineverdauung bei Zimmertemperatur ausgeführt. Die Fäulnis wurde durch Toluolzusatz gehindert. Nach einer bestimmten Frist wurde die Länge des aufgelösten Teils mittels Millimeterskala genau abgelesen. Die sonst schwierige Erkennung der Grenze der unverdauten Gelatinesäule wurde dadurch erleichtert, dass bei der Messung etwas Fuchsin in der Schale zugesetzt wurde. Die Daten in Tabellenform geben die Durchschnittszahlen der 6 Messungen bei 3 Röhrchen in mm. an.

1. — Optimale Konzentration des Natriumkarbonates.

Heidenhain hat in seiner bekannten Pankreasarbeit festgestellt, dass das Fibrin bei einem Sodagehalt von 0.9-1.2 % am besten vom Pankreasferment verdaut wird. Dieser optimale Wert schwankt nach ihm je nach der Konzentration des Fermentes, doch hebt er hervor, dass ein solcher Sodagehalt auch für geringen Fermentgehalt das bei diesem überhaupt erreichbare Maximum der Lösungsgeschwindigkeit erzielt. Nach Kühne wirkt 0.3 % Natriumkarbonat bei Eiweissverdauung am günstigsten. Über den optimalen Sodagehalt bei der Gelatineverdauung ist bisher nichts angegeben.

Meine mit Eiweiss- und Gelatinekapillaren angestellten Versuche haben folgende Daten ergeben.

Sodagehalt	Eiweisskapillare 3 Tage bei 37.8° C.	Gelatinekapillare 19 Stunden bei 22°-25° C.
4 %	0	6.02
2 %	0	6.45
1 %	0.20	6.38
1/2 %	0.70	6.00
1/4 %	0.52	5.93
1/8 %	0.45	—
1/16 %	0.30	—
1/32 %	0.15	—

Für mein Trypsinpräparat ist also das Optimum des Sodagehalts beim geronnenen Eiweiss 0,5 %, während es bei der Gelatine 2 % beträgt. Bei 2 % und darüber vermag unser Trypsin kaum das Eiweiss zu verdauen. (1)

2. — *Einfluss einiger Substanzen auf Eiweiss-resp. Gelatineverdauung.*

In dieser Versuchsreihe habe ich mich durchweg 0.2 % Grübler's Trypsins unter Zusatz von 0.2 % Soda bedient.

Natriumchlorid. — N = 58.5 g. NaCl im Liter.

	Eiweisskapillare, 42 Stunden bei 37.8° C.		Gelatinekapillare, 21 Stunden bei 21°-23° C.	
	in mm.	in % der Kontrolle	in mm.	in % der Kontrolle
N	0	0	3.43	130.9
1/4 N	0.20	19.0	3.25	124.0
1/16 N	0.40	38.9	3.12	119.0
1/64 N	1.00	95.2	2.97	113.4
1/256 N	1.03	98.1	2.68	102.3
O	1.05	100.0	2.62	100.0

Kaliumchlorid. — N = 74.5 g. KCl im Liter.

	Eiweisskapillare, 42 Stunden bei 37.8° C.		Gelatinekapillare, 21 Stunden bei 21°-23° C.	
	in mm.	in % der Kontrolle	in mm.	in % der Kontrolle
N	0	0	3.93	150.0
1/4 N	0.20	19.0	3.48	132.8
1/16 N	0.40	38.1	3.28	125.2
1/64 N	0.90	85.7	2.90	110.7
1/256 N	0.87	82.8	2.65	101.1
O	1.05	100.0	2.62	100.0

(1) Diese Zahlen sind offenbar von dem Trypsinpräparate abhängig; bei dem von mir aus frischem Pankreas nach HEIDENHAIN'scher Methode dargestellten Fermente war das Optimum für Eiweiss zwischen 1—2 %.

Ammoniumchlorid. — N = 53.5 g. NH_4Cl im Liter.

	Eiweisskapillare, 42 Stunden bei 37.8° C.		Gelatinekapillare, 21 Stunden bei 21°-23° C	
	in mm.	in % der Kontrolle	in mm.	in % der Kontrolle
N	0	0	4.13	157.6
1/4 N	0.57	54.3	3.73	142.5
1/16 N	0.82	78.9	3.37	124.8
1/64 N	0.92	87.6	2.90	110.7
1/256 N	1.00	95.2	2.80	106.8
0	1.05	100.0	2.62	100.0

Aus diesen Tabellen ersieht man, dass alle drei Chloride die Eiweiss- und Gelatineverdauung in ganz entgegengetztem Sinne beeinflussen. Jene wird gehemmt und diese befördert; in beiden Fällen desto stärker, je konzentrierter die Lösung war. Es sei bemerkt, dass die gelatinelösende Wirkung der Salze dabei ganz ausgeschlossen ist, da dieselben erst bei noch bedeutend höherer Konzentration jene Wirkung auszulösen vermögen.

Natriumbromid. — N = 139.0 g. NaBr. + $2H_2O$ im Liter.

	Eiweisskapillare, 41 Stunden bei 37.6° C.		Gelatinekapillare, 19 Stunden bei 23°-27° C.	
	in mm.	in % der Kontrolle	in mm.	in % der Kontrolle
N	0.40	25.0	4.35	157.0
1/4 N	0.70	43.7	3.50	126.3
1/16 N	1.27	79.4	3.23	116.6
1/64 N	1.66	103.7	2.95	106.5
1/256 N	1.63	101.8	2.83	102.2
0	1.60	100.0	2.77	100.0

Kaliumbromid. — N = 119.0 g. KBr. im Liter.

	Eiweisskapillare, 41 Stunden bei 37.6° C.		Gelatinekapillare, 19 Stunden bei 23°-27° C.	
	in mm.	in % der Kontrolle	in mm.	in % der Kontrolle
N	0.43	26.8	5.23	188.8
1/4 N	0.55	34.3	4.13	149.1
1/16 N	1.10	68.7	3.63	131.1
1/64 N	1.38	86.2	3.42	123.5
1/256 N	1.70	106.2	3.17	114.4
0	1.60	100.0	2.77	100.0

Ammoniumbromid. — N = 98.0 g. NH_4 Br. im Liter.

	Eiweisskapillare, 41 Stunden bei 37.6° C.		Gelatinekapillare, 19 Stunden bei 23°-27° C.	
	in mm.	in % der Kontrolle	in mm.	in % der Kontrolle
N	0.58	36.2	6.27	226.3
1/4 N	0.70	43.7	4.55	164.6
1/16 N	1.17	73.1	4.00	148.0
1/64 N	1.62	101.2	3.27	118.1
1/256 N	1.63	101.6	3.03	109.7
O	1.60	100.0	2.77	100.0

Die Resultate dieser 3 Versuche stimmen ungefähr mit denen der Chloridversuche überein. Doch scheinen die Bromide in sehr verdünnter Lösung ($\frac{1}{64}$ N und $\frac{1}{256}$ N) die Eiweissverdauung einigermassen zu befördern.

Natriumsulfat. — N = 161.0 g. Na_2SO_4 + 10 H_2O im Liter.

	Eiweisskapillare, 40 Stunden bei 37.8° C.		Gelatinekapillare, 17 Stunden bei 22°-23° C.	
	in mm.	in % der Kontrolle	in mm.	in % der Kontrolle
N	0.60	41.3	2.97	95.8
1/4 N	0.59	40.6	3.93	126.7
1/16 N	0.70	48.2	4.00	129.0
1/64 N	1.20	82.8	3.73	120.3
1/256 N	1.25	86.2	3.27	105.5
O	1.45	100.0	3.10	100.0

Kaliumsulfat. — N = 87.0 g. K_2SO_4 im Liter.

	Eiweisskapillare, 40 Stunden bei 37.8° C.		Gelatinekapillare, 17 Stunden bei 22°-23° C.	
	in mm.	in % der Kontrolle	in mm.	in % der Kontrolle
N	0.45	31.0	3.02	97.4
1/4 N	0.43	29.6	4.10	132.2
1/16 N	0.72	49.6	4.02	129.6
1/64 N	0.93	64.1	3.75	120.9
1/256 N	1.13	77.9	3.35	108.0
O	1.45	100.0	3.10	100.0

Ammoniumsulfat. — 66.0 $(NH_4)_2SO_4$ im Liter.

	Eiweisskapillare, 40 Stunden bei 37.8° C.		Gelatinekapillare, 17 Stunden bei 22°-23° C	
	in mm.	in % der Kontrolle	in mm.	in % der Kontrolle
N	0.52	35.8	3.37	108.7
1/4 N	0.60	41.3	4.10	132.2
1/16 N	0.73	50.3	4.10	132.2
1/64 N	1.02	70.3	3.65	117.7
1/256 N	1.32	91.0	3.32	107.1
0	1.45	100.0	3.10	100.0

Die Alkalisulfate üben nach Fujitani (l. c.) bei der künstlichen Pepsinverdauung stark hemmende Wirkungen aus. Bei der tryptischen Eiweissverdauung ist ihre hemmende Wirkung nicht höher als solche der anderen neutralen Salze. Deshalb könnte man annehmen, dass die hemmende Wirkung der Sulfate bei der peptischen Verdauung nicht auf die Beeinflussung des Eiweisses, sondern des Fermentes selbst zu beziehen ist. Die Resultate der Gelatineverdauung sind soweit von denen mit den übrigen Alkalisalzen gewonnenen verschieden, dass die Normallösung etwas schlechter verdaut, als die verdünnteren.

Wir untersuchten weiter den Einfluss von drei Purinderivaten auf die Trypsinverdauung. Wir wissen durch die Versuchen Fujitani's, dass das Koffeïn die peptische Verdauung stark befördert; nach meinen hier nicht weiter angeführten Untersuchungen üben auch die anderen Purinkörper wie Theobromin, Theophyllin dieselben Einflüsse auf die peptische Verdauung aus. Wie sie auf die Trypsinverdauung wirkt, darüber geben folgende Versuche Aufschluss.

Koffeïn.

	Eiweisskapillare, 3 Tage bei 37.8° C.		Gelatinekapillare, 17 Stunden bei 21°-24° C.	
	in mm.	in % der Kontrolle	in mm.	in % der Kontrolle
1 %	2.00	139.8	4.85	102.8
1/4 %	1.85	129.3	5.20	110.2
1/16 %	1.50	104.9	4.92	104.2
1/64 %	1.63	113.9	4.80	101.6
0	1.43	100.0	4.72	100.0

Theobromin.

	Eiweisskapillare, 3 Tage bei 37.8° C.		Gelatinekapillare, 17 Stunden bei 21°-24° C.	
	in mm.	in % der Kontrolle	in mm.	in % der Kontrolle
1/4 %	1.22	85.3	5.00	105.9
1/16 %	1.30	90.9	4.87	103.2
1/64 %	1.48	103.5	4.73	100.2
1/256 %	1.38	96.5	4.76	100.8
0	1.43	100.0	4.72	100.0

Theophyllin.

	Eiweisskapillare, 3 Tage bei 37.8° C.		Gelatinekapillare, 17 Stunden bei 21°-24° C.	
	in mm.	in % der Kontrolle	in mm.	in % der Kontrolle
1 %	1.68	117.4	5.35	113.6
1/4 %	1.48	103.5	5.08	107.6
1/16 %	1.55	108.4	4.97	105.3
1/64 %	1.40	97.9	4.80	101.6
0	1.43	100.0	4.72	100.0

Die Wirkung der drei genannten Verbindungen ist keine eklatante. Sie befördern nur etwas die Eiweiss- und die Gelatineverdauung, aber nicht in demselben Masse wie die Pepsinverdauung.

Zusammenfassung.

Überblicken wir die gewonnenen Resultate, so ergibt sich folgendes :

Die Gelatine wird durch Trypsin im allgemeinen viel rascher verdaut, als das geronnene Eiweiss.

Die Verdauungsgeschwindigkeit der beiden Testobjekte wird durch verschiedene Zusätze sehr verschieden beeinflusst, in den meisten Fällen sogar in ganz entgegengesetztem Sinne.

Es scheint somit die gelatine- und eiweissverdauende Wirkung auf zwei ganz verschiedenen Vorgängen, die das Trypsin in sich vereinigt, zu beruhen. Wir sind noch lange nicht in der Lage, das Vorhandensein des

zweiten Fermentes, der Glutinase, im Trypsin definitiv anzunehmen, glauben jedoch behaupten zu dürfen, dass die FERMI'sche Gelatinemethode keine einwandfreie ist, wenn dieselbe zur Bestimmung der eiweissverdauenden Kraft des Trypsins dienen soll.

Dezember 1907.

AUS DEM PHARMAKOLOGISCHEN INSTITUTE DER KAISERLICHEN UNIVERSITÄT
ZU KYOTO
DIR. PROF. K. MORISHIMA.

Zur Identitätsfrage des Macleyins und Protopins

(Beiträge zur Pharmakologie des Protopins)

VON

G. HONDA, UND S. NAGASAKI,
Professor der Pharmakologie in Okayama. Assistent am Institute.

Dass das Macleyin, welches EYKMAN (1) aus Macleya cordata R. Br. einer in Japan einheimischen Papaveracee, isolierte, warscheinlich mit dem Protopin, einem zuerst von HESSE (2) aus Opium dargestellten Alkaloid, identisch sei, wurde schon seiner Zeit von dem Entdecker hervorgehoben. Eine ihnen sich ähnlich verhaltende Substanz wurde weiter von v. SELLE (3) in Chelidonium majus und von KÖNIG und TIETZ (4) in der Sanguinariawurzel aufgefunden, und E. SCHMIDT (5), unter dessen Leitung die beiden letztgenannten Untersuchungen ausgeführt wurden, spricht seine Meinung dahin aus, dass es sich bei allen diesen um identische Körper handeln werde.

Der weitere Nachweiss, dass alle Protopine mit Einschluss des Macleyins identisch seien, wurde aufs neue von HOPFGARTNER (6) erbracht. Er unterzog das Macleyin, welches er selber aus Macleya cordata isolierte, einer genaueren Untersuchung und fand, dass es in allen

---

(1) EYKMAN : Journal of pharmaceutical society of Japan (Japanisch). 1882. Nr. 2 u. ff.

(2) HESSE : Annalen d. Chemie u. Pharmacie. 1872. Supplementband VIII, S. 261.

(3) v. SELLE : Arch. d. Pharmacie. 1890. Bd. 228. S. 456.

(4) KÖNIG und TIETZ : Ibid. 1893. Bd. 231. S. 169.

(5) ER. SCHMIDT : Ibid. 1893. Bd. 231. S. 139.

(6) HOPFGARTNER : Monatshefte f. Chemie. 1898. Bd. 19. S. 179-210.

chemischen und physikalischen Eigenschaften mit dem Protopinen übereinstimmt.

Somit war die Identität des Macleyins und Protopins auf chemischen Wege festgestellt. Nun fragte es sich, ob auch ihre pharmakologischen Eigenschaften sich mit einander decken würden.

Über die Wirkung des Macleyins und Protopins liegt bis jetzt überhaupt nur je eine Mitteilung vor. Die Durchsicht beider Arbeiten lässt aber so erhebliche Unterschiede in den Wirkungen beider Körper erkennen, dass ihre Identität vom pharmakologischen Standpunkte aus fraglich erscheint. Wir werden die beiden Veröffentlichungen in ihren Hauptzügen kurz anführen.

Die Wirkung des Macleyins wurde von INOKO (1) untersucht. Die Resultate waren ungefähr folgende : Bei Fröschen (Esculenten u. Temporarien) verursacht das Macleyin, in Dosen von 0,0025-0,01 g. in Form des salzsauren Salzes subkutan beigebracht, zunächts leichte Narkose. dann « epileptiforme Konvulsionen,welche sich bis zum tetanischen Zittern steigern können. — Im leichten Grade sieht man eine Art Schwimmbewegungen, d. h. krampfhafte unwillkürliche, unkoordinierte Bewegungen, bei denen der Kopf gesenkt gehalten und die Extremitäten aus einander gespreizt resp. abduziert werden; im schweren Grade kommt es zu wahren Streckkrampfanfällen mit prägnanten Opisthotonus. Die konvulsivischen Krämpfe wiederholen sich dann anfallsweise, indem leichte mechanische Reizung z. B. einfache Berührung schon im stande ist, neue Anfälle hervorzurufen. »

Die Konvulsionen hängen nach Ansicht des genannten Autors von der Reizung des im verlängerten Mark gelegenen Krampfzentrums ab, und werden durch Chloralhydrat oder Chloroform prompt unterdrückt.

Bei der Applikation grosser Dosen tritt die Lähmung in den Vordergrund und die Krämpfe kommen nur rudimentär zum Vorschein. Unter 0,001 g. ist das Gift unwirksam.

Die Reflextätigkeit ist kurz nach der Injektion etwas vermindert, alsdann erfährt sie eine vorübergehende Steigerung, die bald der Erschöpfung Platz macht.

Die Erregbarkeit der motorischen Nervenenden ist durch Macleyin unerheblich herabgesetzt, ohne dass eine Steigerung derselben vorangeht. Sie vermindert sich dann allmählich mit der Zeit, erhält sich aber sehr lange und bleibt noch bestehen, wenn alle Reflexe gelähmt sind. Erst nach mehreren Stunden, manchmal nach Tagen ist sie vollständig erloschen.

(1) INOKO : Mitteilungen an der medizinischen Fakultät zu Tokyo. 1888 und Bd. I. S. 147. Mitteilung d. Tokyo mediz. Gesellschaft. Bd. II (Japanisch). 1888.

Die Erregbarkeit der quergestreiften Muskeln bleibt fast unverändert.

Die Atmung wird erst etwas beschleunigt, dann gelähmt.

Die Tätigkeit des Froschherzens verändert das Macleyin in Dosen von 0,001-0,005 g. derart, dass die Schlagzahl zunächst erheblich sinkt, dann nach einer gewissen Zeit wieder ansteigt, ohne jedoch die ursprüngliche Höhe zu erreichen. Wenn die Vergiftung noch weiter geht, so steht das Herz schliesslich still, ohne eine charakteristische Stellung einzunehmen. Grössere Dosen (0,005-0,01) verursachen kurzdauernden und noch grössere (0,015 g.) dauernden diastolischen Stillstand. Die Ursache solcher Störung ist nach dem Autor in der Wirkung des Giftes auf die motorischen Ganglien und zugleich auf die Muskulatur zu suchen.

Bei den Warmblütern (Mäuse, Kaninchen, Hunde) verursacht das Macleyin epileptiforme Krämpfe, die von der Reizung des Krampfzentrums abhängig gemacht werden müssen. Auf das Atemzentrum wirkt es erzt reizend, dann lähmend und auf die Herztätigkeit von Anfang an verlangsamend. Die Sekretionen nehmen manchmal zu.

Die pharmakologische Untersuchung des Protopins (sowohl aus Opium als aus Chelidoneum) wurde von ENGEL (1) ausgeführt. Er experimentierte zunächst an Fröschen und sah bei kleinen Dosen (0,002 g.) nur leichte Narkose der Tiere und bei grösseren (0,004 und mehr) ausserdem noch periphere motorische Störungen. Es kommt nämlich der Muskel bei der tetanisierende Reizung des Nervenstamms nicht mehr zu einer dauernden Kontraktion, sondern nur zu einer Reihe von stossweise auf einander folgenden, an Stärke rasch abnehmenden Einzelkontraktionen. Die Erregbarkeit der motorischen Nervenendapparate nimmt dabei stetig ab und war in einem Falle schon 50 Minuten nach der Vergiftung vollständig erloschen, während die Muskeln noch lange ihre Erregbarkeit behalten.

Die Reflexerregbarkeit bleibt bei kleinen Dosen im allgemeinen unbeeinflusst. Bei mittleren Gaben findet sich hier und da ein Zustand, der an eine gesteigerte Reflexerregbarkeit erinnert, doch kommt es niemals zu wirklichen tetanischen Erscheinungen. Bei etwa 4 mg. tritt totales Verschwinden der Reflexerregbarkeit ein.

Epileptiforme Konvulsionen hat der Autor bei Fröschen nie beobachtet.

Die Herzwirkung besteht darin, dass die Frequenz zunächst sinkt dann wieder ansteigt und dabei das Herz sehr klein und blass wird und seine Kontraktionen einen wellen- oder wurmförmigen Charakter

(1) v. ENGEL: Archiv f. exper. Path. u. Pharmak. 1890. Bd. 27. S. 419.

annehmen. In diesem Zustande kann das Herz viele Stunden weiter schlagen.

Die Versuche an Warmblütern haben ergeben, dass das Protopin wie das Macleyin anfallsweise auftretende Krämpfe hervorruft. Der Blutdruck steigt bei kleinen und mittleren Dosen nach einem ganz vorübergehendem Absinken unmittelbar nach der Injektion. Diese Wirkung ist jedoch nur eine transitorische, und der Druck geht bald zur Norm zurück. Wiederholt man die Einverleibung des Giftes, so ist das Ansteigen nur ein ganz vorübergehendes und weicht einem allmählichen Sinken des Druckes genau so wie nach grossen Gaben der Substanz. Die Wirkungsweise des Protopins auf die Zirkulation ist « einerseits auf das Herz, anderseits auf das Gefässnervencentrum gerichtet; in beiden Fällen lähmend, und zwar im Herzen schon bei mässigen Gaben die Hemmungsapparate, bei grössern den Herzmuskel. »

Vergleichen wir die Resultate beider Forscher, so macht sich der Unterschied in folgenden Punkten bemerkbar.

1. Bei Fröschen hat v. ENGEL keine Spur von Krämpfen die vom Kopfmark ausgehen, beobachtet, während INOKO dieselbe manchmal in so ausgeprägter Form wie bei der Pikrotoxinvergiftung auftreten sah.

Bekanntlich zeigt der Kampher, der bei Warmblütern typischen Krampfanfall hervorruft, keine krampferregende Wirkung an Fröschen. Doch hat WIEDEMANN (1) bei Sommerfröschen einige Andeutungen einer krampfhaften Erregung nachgewiesen und sucht das Ausbleiben der Krämpfe unter Kampherwirkung mit der frühzeitig auftretenden Lähmung des Rückenmarks und der motorischen Nervenenden zu erklären. Nun will H. MAYER (2) sich dieser Ansicht nicht anschliessen, denn er konnte bei der Kamphervergiftung niemals, bei Sommer- wie bei Winterfröschen, Krämpfe beobachten und konstatierte, dass die Lähmung des Rückenmarkes und der Nervenenden dabei erst sehr spät auftritt, sodass dieselbe als Ursache jener Tatsache kaum anzusehen ist. Er ist daher der Meinung, « dass die Gifte sowohl der Kampfer-, wie die der Protopingruppe bei Säugetieren motorische Centren erregen, die beim Frosch nur rudimentär oder gar nicht entwickelt sind; am ehesten wird man dabei an Centren der Hirnrinde zu denken haben. »

Es ist also nicht ohne Interesse, in dieser Hinsicht die Wirkung des Protopins resp. Macleyins auf die motorische Funktion einer Nachprüfung zu unterziehen.

2. Die eigentümliche Muskelwirkung des Protopins hat INOKO beim Macleyin gänzlich vermisst.

(1) WIEDEMANN : Archiv f. experim. Pathol. u. Pharm. 1877. Bd. 6. S. 219.
(2) H. MAYER : Ibid. 1892. Bd. 29. S. 438,

3. Über die Wirkung auf das Froschherz stimmen die Angaben beider Autoren nicht ganz überein; ebensowenig diejenigen auf Atmung und Zirkulation der Säugetiere.

Ob solche Unterschiede zwischen der Wirkung des Protopins und des Macleyins bestehen oder nicht, darüber Aufschluss zu geben, ist der Zweck der vorliegenden Arbeit.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN.

I. — Darstellung des Macleyins.

Die Stengel und Blätter der frisch im Juni gesammelten Macleya cordata wurden fein zerschnitten, getrocknet und mit 95 % igem Alkohol, dem etwas Essigsäure zugesetzt war, bei Zimmertemperatur wochenlang extrahiert. Die Wurzel kam nicht zur Verarbeitung, da sie nach EYKMAN viel Sanguinarin enthält und die Reindarstellung des Macleyins dadurch sehr erschwert wird. Nach dem Abdestillieren des Alkohols wurde das Extrakt mit Wasser aufgenommen und mit Ueberschuss von Kalilauge versetzt, wobei ein reichlicher Niederschlag, der hauptsächlich aus Macleyin besteht, sich bildete. Dieser wurde auf einem Filter gesammelt, und nachdem er durch Pressen zwischen Filterpapier von der grössten Menge des anhaftenden Wassers befreit worden war, in Essigsäure aufgelöst. Die Lösung wurde filtriert und mit Kalilauge gefällt. Nach 7—8 maliger Wiederholung der letztgenannten Prozedur erhält man schliesslich eine nur noch schwach gefärbte essigsaure Lösung des Alkaloids.

Die essigsaure Flüssigkeit enthält ausser Macleyin noch ein zweites Alkaloid, β-Homochelidonin. Um das erstere von dem letzteren zu trennen, wurde eine grössere Menge Kaliumnitrats in Substanz zugesetzt, wobei das schwerlösliche salpetersaure Macleyin beinah vollständig gefällt wird, wenn die Lösung nicht allzu verdünnt ist, während das salpetersaure Salz des β-Homochelidonins, wegen seiner grossen Löslichkeit in Wasser, meist in Lösung bleibt und durch Abfiltrieren leicht entfernt werden kann. Das Macleyinsalz wurde nun mehrmals aus heissem Wasser, worin es ziemlich leicht löslich ist, umkrystallisiert, bis die Mutterlauge vollständig farblos war. Hier sei bemerkt, dass bei der Umkrystallisation jedesmal eine ganz kleine Menge Salpetersäure zugesetzt werden musste, um schliesslich eine farblose Mutterlauge zu bekommen. Sonst blieb die Mutterlauge stets gefärbt und nahm sogar eine immer intensivere Färbung an, was allem Anscheine nach davon abhängt, dass sich das Salz durch viel Wasser spaltet und das Alkaloid, welches das Erhitzen schlecht verträgt, frei wird.

Das erhaltene salpetersaure Salz wurde schliesslich mit Kalilauge zersetzt und die abgeschiedene Base mit Chloroform aufgenommen, welches

schon bei einmaligem Durchschütteln die freie Base fast quantitativ an sich reisst. Nach dem Verdunsten des Chloroforms erhält man manchmal das Alkaloid in zwei verschiedenen Kristallformen, wobei es sich aber, wie schon SELLE (1) bei der Darstellung des Chelidoniumprotopins bemerkt, nicht um zwei verschiedene Körper handelt, denn aus einem Gemisch von bestimmter Konzentration von Chloroform und Essigäther kann man sehr oft die Base in einheitlicher Kristallform erhalten.

Das Macleyin, noch einige Male aus dem genannten Gemisch umkristallisiert, besitzt alle Charaktere des Protopins. Die vergleichenden Untersuchungen betreffs der chemischen und physikalischen Eigenschaften, die wir mit Opium-Protopin von MERCK angestellt haben, ergaben vollständig übereinstimmende Resultate. Doch behalten wir zunächst für die weitere Darstellung die Bezeichnung Macleyin bei, bis die Identität beider Substanzen auch pharmakologisch festgestellt sein wird.

Zum Tierexperimente diente die essigsaure Lösung des Macleyins, die mit Soda neutralisiert wurde. Die Dosenangaben beziehen sich auf die freie Base.

II. — Tierexperimente.

1/ Ob das Macleyin resp. Protopin bei Fröschen spontane Krämpfe hervorruft?

Beim Studium der allgemeinen Erscheinung mit dem Macleyin sowie mit dem MERCK'schen Opium-Protopin haben wir nicht selten Krämpfe, die denen bei der Pikrotoxinvergiftung äusserst ähneln, auftreten gesehen. Um zu entscheiden, ob es sich dabei um die gesteigerte Reflextätigkeit, die schon v. ENGEL bei dem Protopinversuch angegeben hat, handelt oder ob hier eine wirkliche Reizung des Krampfzentrums vorliegt, war es nötig, auch die Wirkungen der Gifte auf das Rückenmark und die peripheren motorischen Apparate einer genaueren Untersuchung zu unterziehen. Zunächst beschäftigen wir uns mit der Macleyinwirkung.

Injiziert man das Macleyin in Dosen von 1-10 mg. in den Bauchlymphsack eines Frosches, sei es Esculenta oder Temporaria, so verfällt das Tier bald in einen Zustand der leichten Narkose. Es verliert dabei seine normale hockende Lage, und springt ungeschickt und zwar immer nur eine kleine Strecke. Mit der Zeit vertieft sich die Narkose, sodass das Tier die Rückenlage erträgt und schliesslich jede willkürliche Bewegung verschwindet. Die Atembewegungen wirden verlangsamt und oberflächlich, unterbrochen durch die gruppenweise auftretenden stärkeren Atemzüge. Die Pupillen sind meist verengt. Wenn man in diesem Stadium das

(1) V. SELLE : l. c. S. 458.

Tier irgendwo mechanisch reizt, so beantwortet es den Reiz entweder mit einer Reflexbewegung, die wohl als etwas gesteigert bezeichnet werden kann, oder mit Krämpfen, die mit fibrillären Zuckungen der Körpermuskulatur beginnen und sich durch starke Abduktion der Beine und Opisthotonus der Rumpfes charakterisieren. Diese letztgenannte Art der Krämpfe tritt auch spontan und zwar in verschiedenen Intervallen auf, bis sie am Ende der vollständigen Lähmung auch der reflektorischen Bewegungen Platz macht.

Die Intensität der Krämpfe ist individuell sehr verschieden, manchmal existiert kaum eine Andeutung, manchmal aber sind sie ziemlich ausgesprochen, doch nie in so eklatanter Form vorhanden wie bei der Pikrotoxinvergiftung. Aus den zahlreichen vergleichenden Untersuchungen, die wir in den Monaten Mai und Juni ausgeführt haben, geht die Tatsache soweit mit Sicherheit hervor, dass die Krämpfe in hohem Grade einerseits von der Art der Frösche, anderseits von den angewandten Dosen abhängig sind. Die maximale Intensität wurde immer bei Temporaria und bei Dosen von 2-5 mg. beobachtet. Bei grösseren Dosen nimmt die Lähmung sehr bald überhand. Auch bei den oben angegebenen Dosen trifft man ab und zu solche Fälle, in denen die Krämpfe nur auf Reizung mit dem Charakter von Reflexbewegungen auftreten.

Somit ist es ausser allem Zweifel, dass bei der Macleyinvergiftung ein Reizungszustand der motorischen Funktionen als ziemlich konstante Erscheinung zum Vorschein kommt. Um denselben näher zu präzisieren, haben wir solche Frösche, denen das Zentralnervensystem zwischen Rückenmark und Medulla oblongata einen Tag vorher durchgeschnitten worden war, sogenannte Reflexfrösche, mit Macleyin vergiftet. Das Bild war dabei ziemlich verschieden von dem geschilderten. Die mechanische Reizung wurde hier nie mit pikrotoxinartigen Krämpfen, sondern mit einfachen Streckbewegungen oder einigen Zuckungen besonders der hintern Extremitäten beantwortet. Die Reflexbewegungen nahmen augenscheinlich einen spastischen Charakter an und waren meist schon auf den ersten Blick erhöht.

Über die Wirkung des Macleyins und des Protopins auf die Reflextätigkeit besteht kein Gegensatz zwischen den Angaben beider Forscher. Wie oben angeführt, hat v. Engel beim Protopin hier und da einen Zustand beobachtet, der an eine gesteigerte Reflexerregbarkeit erinnert. Durch genauere Untersuchung von Inoko wurde beim Macleyin festgestellt, dass die Reflextätigkeit zunächst unverändert bleibt oder vielmehr etwas sinkt, dann deutlich erhöht und schliesslich gelähmt wird.

Wir haben auch einige diesbezügliche Versuche mittelst der Türck'schen Methode angestellt, die im wesentlichen nur die Angabe Inoko's bestätigen. Wir müssen gestehen, dass die Resultate sehr inkon-

stant waren. Es wurde nämlich beobachtet, dass in dem Stadium, in welchem der Reflex meist 1-2 Sek. nach dem Eintauchen in 1 °/₀₀ Schwefelsäure-Lösung ausgelöst zu werden pflegt, plötzlich starke Verlangsamung der Reflexzeit eintritt. Doch im grossen und ganzen folgt auf ein kurz dauerndes Stadium, in dem die Reflextätigkeit eher etwas herabgesetzt ist, ein Stadium von deutlich gesteigerter Reflexerregbarkeit, welches je nach der Giftdosis früher oder später in die Lähmung übergeht.

In dieser Hinsicht hat das Macleyin grosse Ähnlichkeit mit vielen Opiumalkaloiden, wie Narkotin und Codein (1). Auch eine abnorm gesteigerte Erschöpfbarkeit des Rückenmarks, welche beim Morphin neben erhöhter Reflexerregbarkeit vorkommt, konnten wir beim Macleyin konstatieren. Diese abnorme Erschöpfbarkeit des Rückenmarks und noch eine andere Erscheinung, welche wir noch weiter unten behandeln werden, nämlich die periphere Wirkung des Macleyins auf nervöse Endapparate und auf die Muskeln selbst, modifizieren das Phänomen der Reflexerhöhung, sodass es dabei, wie v. ENGEL auch bei den Protopinversuchen angibt, niemals zu wirklichen tetanischen Erscheinungen kommt.

Aus obigen Versuchresultaten geht also hervor, dass das Macleyin ausser dem Rückenmark noch eine höher gelegene Stelle des Zentralnervensystems in Erregung versetzt. Eine weitere Versuchreihe, welche mit den in der vorderen Grenze der Medulla oblongata dekapitierten Fröschen angestellt wurden, hat nun ergeben, dass solche Frösche sich in Bezug auf die motorische Reizerscheinung vollständig wie nicht dekapitierte verhalten. Mithin müssen die nach Eingabe von Macleyin auftretenden Krämpfe durch eine Erregung des im Kopfmarke gelegenen Krampfzentrums erklärt werden, da sowohl unversehrte als auch vor dem verlängerten Mark dekapitierte Frösche ausser einer abnormen Reflexerregbarkeit noch die oben erwähnten Krampfanfälle zeigen, die sofort nach der Trennung des Gehirns vom Rückenmark verschwinden.

Wie in den einleitenden Bemerkungen hervorgehoben wurde, hat v. ENGEL diese Wirkung beim Protopin gänzlich vermisst. Da diese Wirkung den Schwerpunkt bildet, welcher das Macleyin von dem Protopin unterscheidet, so haben wir obige Versuche an zahlreichen Fröschen mit MERCK'schem Opium-Protopin wiederholt. Die Resultate stimmen mit denen, die wir beim Macleyinversuch erhalten hatten, genau überein, und was wir oben von dem Macleyin gesagt haben, gilt auch für Protopin. Als Belege dafür geben wir einige Protokolle wieder.

Versuch 1. — 17 Juni.

Mittelgrosse Temporaria. Am vorigen Tage wurde das Gehirn an der Verbindungslinie der vorderen Trommelfellränder durchgeschnitten.

---

(1) Vergl. v. SCHROEDER : Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1883. Bd. 17, S. 96.

3 h. 31'. 0,004 g. Opium-Protopin, in Essigsäure gelöst, mit Natriumkarbonat neutralisiert, in den Bauchlymphsack eingespritzt.

3 h. 35'. Körperhaltung flach, vordere Extremitäten auseinandergehalten.

3 h. 40'. Schwache kurzdauernde Konvulsionen mit fibrillaren Muskelzuckungen. Respiration flach.

3 h. 43'. Die Konvulsionen wiederholen sich etwa alle 2 Minuten.

3 h. 46'. Krämpfe, die an ganz schwache Pikrotoxinwirkung erinnern. Einige tiefere Atemzüge.

3 h. 50'. Status idem.

3 h. 55'. Streckkrampf, rasch vorübergehend.

4 h. Respirationsstillstand.

4 h. 5'. Keine spontanen Krämpfe. Nur noch zuckende Bewegungen auf Reiz.

4 h. 25'. Keine Bewegungen auf Reiz. Herz schlägt noch langsam. Versuch abgebrochen.

Versuch 2. — 19 Juni.

Mittelgrosse Esculenta. Operation wie vorher.

10 h. 25'. 0,006 g. Opium-Protopin subkutan.

10 h. 35. Atmung schwach und langsam. Ab und zu tiefere, kurz auf einander folgende Inspirationen. Körperhaltung flach.

10 h. 50'. Auf mechanischen Reiz allgemeine klonische Konvulsionen.

11 h. Die spontanen Krämpfe widerholen sich mehrmals. Reflexe scheinen etwas erhöht.

11 h. 10'. Auf Reiz Streckbewegung.

11 h. 25'. Status idem.

11 h. 45'. Reflexe nehmen ab.

12 h. 30'. Reflexerregbarkeit nimmt immer noch ab.

1 h. Keine Reflexbewegung mehr. Versuch abgebrochen.

Wir haben gesehen, dass die spontanen Krämpfe, die durch die reizende Wirkung des Macleyins resp. Protopins auf das Krampfzentrum hervorgerufen werden, in Bezug auf ihre Intensität grossen Schwankungen unterliegen, nie eine solche Stärke wie nach Pikrotoxindarreichung erreichen, und verhältnismässig rasch in Lähmung übergehen. Als Ursache dieser Tatsache lassen sich verschiedene Möglichkeiten denken.

Einmal nämlich kann die Herabsetzung oder Lähmung der Erregbarkeit entweder der Muskeln oder der motorischen Endapparate oder des Leitungsvermögens des Rückenmarks die Schuld daran tragen; oder aber die geschilderten Erscheinungen sind von dem Verhalten des Krampfzentrums selbst gegen unser Gift abhängig, welches vielleicht jenes nur schwach und vorübergehend reizen würde. Aus den angeführten Protokollen ersehen wir, dass das Verschwinden der spontanen Krämpfe früher eintritt, als die vollständige Reflexlähmung, was beweist, dass der periphere Teil beim Verschwinden der spontanen Krämpfe noch erregbar bleibt. Es scheint also auf den ersten Blick das letztgenannte Moment der

wahrscheinlichste Grund für die beobachteten Tatsachen zu sein. Allein man kann die Möglichkeit nicht ausschliessen, dass die Leitungsbahn und die peripheren Apparate dabei nicht vollständig, sondern nur soweit gelähmt sind, dass der Impuls von dem Krampfzentrum nicht mehr auf den Muskel übertragen wird, während starke Reflexreize wohl noch Muskelkontraktion hervorzurufen im stande sind. Wir werden also noch näher auf diese Frage eingehen müssen.

Die Funktion der quergestreiften Muskeln, mit der wir uns später näher beschäftigen werden, ist zwar verändert, aber ihre Erregbarkeit ist gegen elektrische Einzelreize nicht herabgesetzt. Dagegen verlieren die motorischen Endapparate nach v. ENGEL und ebenso nach INOKO in einem gewissem Stadium der Vergiftung vollständig ihre Erregbarkeit. Dass man doch diese Wirkung allein als Ursache der Schwäche und des frühzeitigen Schwunds der Krämpfe anzusehen nicht berechtigt ist, ergibt sich aus den folgenden Versuchen.

Versuch 3. — 25 Juni.

Mittelgrosse Esculenta. Rechte A. iliaca unterbunden.

9 h. 26'. 0.005 g. Macleyin subkutan.

9 h. 30'. Oberflächliche Respiration; ab und zu tiefe kurz auf einander folgende Inspirationen. Körperhaltung flach. Rückenlage wird ertragen.

9 h. 37'. Auf Reiz Streckbewegung, dann vibrierende Muskelbewegungen.

9 h. 40'. Reflexerregbarkeit nimmt zu.

9 h. 46'. Spontane schwache Konvulsionen, die sich wiederholen. Die Intensität war am rechten Beine etwas grösser.

9 h. 53'. Reflexerregbarkeit stark herabgesetzt. Atemstillstand. N. ischiadicus beiderseits blosgelegt, mit Induktionsstrom gereizt.

10 h. 5'. Rechts : bei 44 cm. R.-A. Tetanus.
Links : bei 44 cm. R.-A. vibrierende Bewegung.

10 h. 25'. Rechts : bei 44 cm. R.-A. Tetanus.
Links : bei 37 cm. R.-A. kurze Zuckung.

10 h. 45'. Rechts : bei 44 cm. R.-A. Tetanus.
Links : bei 33 cm. R.-A. kurze Zuckung.

11 h. Rechts : bei 44 cm. R.-A. Tetanus.
Links : bei 28 cm. R.-A. einige schwache Zuckungen.

Versuch abgebrochen.

Versuch 4. — 25 Juni.

Mittelgrosse Esculenta. Operation wie im vorigen Versuch.

2 h. 2'. 0.025 g. Macleyin subkutan.

2 h. 3 1/2'. Erträgt schon Rückenlage.

2 h. 15'. Auf mechanische Reize allgemeine Konvulsionen, an denen auch das nicht unterbundene Bein teilnimmt. N. ischiadicus beiderseits blosgelegt, auf ihre Erregbarkeit geprüft.

2 h. 25'. Rechts : bei 44 cm. R.-A. Tetanus.
Links : bei 29 cm. R.-A. vibrierende Bewegung.

2 h. 40'. Rechts bei 26 cm. R.-A. Tetanus.
Links : bei 26 cm. R.-A. vibrierende Bewegung.
3 h. 10'. Rechts : bei 26 cm. R.-A. Tetanus.
Links : bei 10 cm. R.-A. schwache Zuckung.
3 h. 50'. Rechts : bei 25 cm. R.-A. Tetanus.
Links : bei 8 cm. R.-A. schwache Zuckung.
4 h. 50'. Rechts : bei 19 cm. R.-A. Tetanus.
Links : bei 0 cm. R.-A. Zuckung.

Die Muskulatur der nicht unterbundenen Seite war starr und hart. Die Erregbarkeit des Muskels ist erhalten.

Die kurareartige Wirkung des Macleyins ist also zwar vorhanden, doch tritt sie selbst nach hohen Gaben nur in den verhältnismässig späten Stadien zu Tage, während die Schwäche der Krämpfe von Anfang an besteht, und zwar selbst an dem von der Giftwirkung ausgeschalteten Bein. Die Ursache der Schwäche der Krämpfe muss daher anderswo gesucht werden.

Wir unternahmen es also, das Leitungsvermögen des Rückenmarks nach der Versuchsanordnung, die WIEDEMANN (1) bei seiner Kampheruntersuchung angewendet hatte, zu prüfen. Es wurde bei vorher dekapitierten Fröschen die A. iliaca einerseits unterbunden, der Rollenabstand, bei welchem die hinteren Extremitäten durch direkte Reizung des Rückenmarks zucken, genau bestimmt und der Frosch durch eine subkutane Gabe von Macleyin vergiftet. Die zahlreichen Versuche haben ergeben, dass die Längsleitung des Rückenmarks durch 0,005-0,01 g. Macleyin schon in Laufe von 5-10 Minuten deutlich herabgesetzt wird. Die lähmende Wirkung nimmt dabei allmählich zu, ohne doch eine vollständige Paralyse zu erreichen.

Wir sind demnach berechtigt anzunehmen, dass die Lähmung der Leitungsbahn im Rückenmark die Hauptursache der Schwäche der Krämpfe bildet und dass die Lähmung der motorische Nervenenden höchstens einen kleinen Anteil daran nimmt. Ob daneben frühzeitige Erschöpfung oder leichte Erschöpfbarkeit des Krampfzentrums selbst daran schuld sind, lässt sich, trotz hoher Wahrscheinlichkeit, unter solchen Umständen nicht feststellen.

2) Wirkung auf die quergestreifte Muskeln.

Wie oben angedeutet wurde, hat v. ENGEL eine eigenartige Muskelwirkung des Protopins nachgewiesen. Bei der elektrischen Reizung des Muskels ist zwar die normale Hubhöhe erhalten, doch kommt es zu keinem normalen, der Dauer der Einwirkung des Reizes entsprechenden einheitlichen Tetanus, sondern zu einer Reihe von stossweise auf einander

(1) WIEDEMANN : Archiv. f. exp. Path. u. Pharm. 1877. Bd. 6. S. 220.

folgenden, an Stärke rasch abnehmenden Einzelkontraktionen. Diese rasche Ermüdbarkeit des Muskels hat INOKO bei der Macleyinvergiftung vollständig vermisst.

Die genauere Untersuchung nun, die wir mit Macleyin ausgeführt haben, hat die ENGEL'sche Angabe bestätigt und ergeben, dass die Zuckungskurve des vergifteten Gastrocnemius bei einzelnen Induktionsschlägen, solange die Giftmenge nicht zu gross ist, weder an Höhe noch an Form eine Abweichung von der des unvergifteten zeigt, dass aber die Ermüdungs- wie auch Tetanuskurve deutliche Veränderungen erleidet. Die absolute Kraft und das Arbeitsmaximum sind ebenfalls bei den vergifteten Muskeln stark vermindert.

Da die Muskelwirkung des Giftes uns einiges Interesse bietet, werden wir hier etwas näher darauf eingehen.

Zu den Muskelversuchen wurde der Frosch zuerst vollständig kurarisiert, der eine Gastrocnemius, nachdem der Oberschenkel der betreffenden Seite mit starken Fäden abgeschnürt worden war, frei präpariert und nach einer gewissen Zeit der Erholung in der üblichen Weise in den Stromkreis der sekundären Rolle der Schlittenapparats eingefügt. Nun wurde der Frosch mit Macleyin vergiftet und nach einem gewissen Zeitraum der andere Gastrocnemius genau ebenso zur Kontrolle behandelt.

Zunächst beschäftigen wir uns mit dem Ermüdungsversuche.

Als Reiz diente der in Abständen von je 2 Sekunden erfolgende Öffnungsinduktionsschlag. Die Rollenabstände wurden so gewählt, dass maximale Zuckungen des Kontrollmuskels erzielt wurden. Die Belastung betrug 15 g.

Die beistehende Figur gibt die Kurve eines solchen Versuches wieder. *A* stammt vom normalen und *B* vom mit 5 mg. Macleyin vergifteten Gastrocnemius einer Esculenta. Wir ersehen daraus, dass der Muskel zunächst noch normale Kontraktionen auszuführen im stande ist, aber doch derartige Veränderungen aufweist, dass er ungemein rasch erschöpft wird und dass er, besonders wenn der Muskel schon ziemlich ermüdet ist, nicht mehr regelmässig auf rhythmische Reize mit Zuckungen zu antworten vermag. Der Muskel bleibt dann manchmal trotz der Reize in Ruhe. Die Ruhepause und Zuckungshöhe sind dabei sehr verschieden, und die Kurve stellt ein ganz unregelmässiges Bild dar.

Diese Unregelmässigkeit fängt schon eine Stunde nach der Vergiftung an und wird mit der Zeit immer ausgeprägter. Bei höheren Dosen ist die Hubhöhe von Anfang an niedrig, der Muskel ermüdet viel rascher und zeigt stärkere Unregelmässigkeiten.

Wie solche Erscheinungen zu stande kommen, darüber können wir vorläufig nichts aussagen. Nur machen wir darauf aufmerksam, dass ein



A. Der linke Gastrocnemius. Nicht vergiftet.



B. Der rechte Gastrocnemius. 5 Stunden nach der Vergiftung mit 5 mg. Macleyin.

ähnliches Bild auch bei der Bleivergiftung (1) und unter Natriumnitratwirkung (2) beobachtet wurde.

Tetanisiert man den normalen und den mit Macleyin vergifteten Muskel bis zur Ermüdung, so erhält man Kurven von ganz verschiedenem Typus. Die Kurve des vergifteten Muskels ist, der Ermüdungskurve analog, schnell abfallend und zeigt wellenförmige Unebenheiten. Die Hubhöhe am Anfang der Reize steht hier auch der normalen nicht nach.

Die kurzdauernde Tetanisierung in gewissen Intervallen wie es v. Engel bei der Protopinuntersuchung gemacht hatte, gibt ein ganz gleiches Bild, wie es dieser Autor in seiner Publikation wiedergegeben hat.

Ein nicht minder interessantes Resultat haben die Versuche, die sich mit der Leistungsfähigkeit des Muskels beschäftigen. Betreffs der Versuchsanordnung verweisen wir auf die frühere Arbeit des einen von uns.(3) Die Versuchsdaten waren folgende :

Versuch 5. — 1 Mai.

Mittelgrosse Esculenta. Rechtes Bein amputiert. Der Gastrocnemius präpariert. 0,005 g. Macleyin in den Brustlymphsack. 2 Stunden nach der Giftapplikation wurde das linke Bein präpariert.

Belastung in g.	Rechter gastrocnemius (normal)		Linker Gastrocnemius (vergiftet)	
	Zuckungshöhe in mm.	**Arbeit in g. × mm.**	**Zuckungshöhe in mm.**	**Arbeit in g. × mm.**
40	8.00	320.0	7.44	297.6
80	7.40	592.0	6.40	512.0
100	6.60	660.0	5.76	576.0
120	5.92	710.4	5.28	633.6
140	5.20	728.0	4.64	649.6
160	5.04	806.4	3.80	608.0
180	4.64	835.2	2.40	432.0
200	3.88	776.0	0.60	120.0
220	3.60	792.0	0.16	35.0
240	2.84	681.6	—	—
260	2.10	546.0	—	—
280	0.50	140.0	—	—
300	—	—	—	—
	Arbeitssumme	7597.6		3863.8

(1) Harnack : Archiv f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1878. Bd. 9. S. 171.
(2) Schwarz : Pflüger's Archiv. 1907. Bd. 117. 1198 u. Taf. VIII.
(3) Honda : Archiv f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1905. Bd. 52. S. 89.

Es ergibt sich also aus den Versuchsdaten, dass die Arbeitsleistung bei kleiner Belastung nicht nennenswert geschwächt ist, dass aber die maximale Arbeit und die absolute Kraft bei dem vergifteten Muskel stark abnimmt. Die Summe der ganzen Arbeit beträgt ja bei dem vergifteten beinahe nur die Hälfte des normalen.

Die Wirkung unseres Gifts auf den Muskel ist also bei der Untersuchung der einfachen Zuckungskurve nicht zu erkennen, sondern kommt erst durch die Ermüdungsversuche oder bei höherer Belastung zum Vorschein.

Die obige Muskelwirkung bezieht sich auf die mässige Dose des Giftes (bis 5, höchtens 10 mg.). Nach stärkeren Dosen vermindert sich auch die Erregbarkeit gegen einfache Reize. Bei der direkten Berührung des Muskels mit der Giftlösung von ungefähr 1 % gerät der Muskel in einen Zustand der Starre, der sich makroskopisch und mikroskopisch vollständig mit dem Bild des Koffeinmuskels deckt. Die Erregbarkeit wurde dabei natürlich gänzlich vernichtet.

3) Wirkung des Macleyins auf das Froschherz.

Was die Herzwirkung des Protopins und Macleyins anbetrifft, so stimmen beide Forscher darin überein, dass die Schlagzahl durch die Gifte stark verlangsamt wird, um später wieder etwas zu steigen. Ausser dieser Veränderung der Schlagfolge, die keineswegs von der Reizwirkung des Hemmungsapparates abhängt, hat v. ENGEL bei dem Protopin die Veränderung der Kontraktionsart bemerkt. Dieselbe besteht in der starken Blässe und wellen-oder wurmförmigen Bewegung der Herzmuskulatur. Die Sinusreizung wurde dabei wirkungslos gefunden.

Ob diese von INOKO bei der Macleyinvergiftung nicht beobachteten Wirkungen auch unserem Gifte zukommen, darüber gibt der folgende Versuch Aufschluss.

Versuch 6. — 28 März.

Esculenta gefenstert.
2 h. 44'. Herzschläge : 41 pro Minute.
2 h. 47'. 0,006 g. Macleyin in den Schenkellymphsack.
2 h. 51'. Herzschläge : 35 pro Minute.

2 h. 54'.	»	35	»	»
2 h. 57'.	»	30	»	»
3 h.	»	29	»	»
3 h. 4'.	»	23	»	»
3 h. 10'.	»	22	»	»
3 h. 14'.	»	25	»	»

3 h. 15'. 0,002 g. Macleyin in den Schenkellymphsack.
3 h. 20'. Herzschläge : 19. Kontraktion unvollkommen. Herz blass. Bewegung wellenförmig.

3 h. 25'. Herzschläge : 23 pro Minute.
3 h. 35'. » 20 » »
3 h. 58'. » 17 » » Sinusreizung wirkungslos, ebenso Muskarinaufträufelung. Halbierung der Kammerschläge.
4 h. Herzschläge : 13 pro Minute.
4 h. 10'. » 12 » » 1 Tropfen Atropin aufs Herz.
4 h. 15'. » 10 » »
4 h. 55'. » 10 » »
5 h. 20'. » 9 » »
5 h. 55'. » 9 » » Versuch abgebrochen.

Es stimmt also die Erscheinung damit überein, was v. ENGEL bei der Protopinvergiftung beobachtet hatte. Sie hat ihren Grund wenigstens der Hauptsache nach in der Muskelwirkung des Giftes, die analog der Wirkung auf Skelettmuskeln in einer rascheren Ermüdung und Herabsetzung der Erregbarkeit besteht. Die Blässe des Herzmuskels ist einigermassen der Starre der Skelettmuskeln analog. Sie tritt noch stärker auf, wenn man die Giftlösung direkt in die Bauchvene einspritzt. Bei dieser Vergiftungsart bemerkt man ausser starker Blässe des Herzens erheblich verlangsamte und unvollkommene Kontraktionen und manchmal einige Minuten lang andauernden Stillstand der Herzkammer, welcher durch kaum als Kontraktion erkennbare Bewegungen der Herzwand unterbrochen wird.

4) Wirkung auf Warmblüter.

Die allgemeine Erscheinung des Macleyinwirkung bei Säugern ist dieselbe, die v. ENGEL bei der Protopinvergiftung gesehen hat. Das ganze Vergiftungsbild ist demjenigen der Kamphervergiftung gleich, bestehend in der hochgradigen Aufregung und den darauf folgenden epileptiformen Krämpfen, die sich öfters wiederholen. Dabei kommen weder die narkotische noch reflexerhöhende Wirkungen, die wir wohl bei Fröschen beobachtet hatten, zum Vorschein.

Wir gaben einem Hunde von 7,4 kg. Körpergewicht 0,1 gr. Macleyin und einem Kaninchen von 1,9 kg. 0,05 g. Macleyin subkutan. Der erstere erholte sich allmählich nach 3 Stunden lang andauernden kurz hintereinander folgenden Krampfanfällen, das letztere zeigte ähnliche Erscheinungen und starb 2 Stunden nach der Einverleibung, mit den Zeichen eines ziemlich starken Lungenödems.

Die Atmung ist, solange die Gabe klein und noch nicht krampferregend ist, kaum verschieden von der Norm. Bei krampfmachenden Gaben wird die Atmung während der Krämpfe tiefer und frequenter und im ihrem ganzen Verlauf unregelmässig.

Bezüglich der Wirkung auf die Zirkulation gibt v. ENGEL an, dass der Druck nach einem ganz vorübergehenden Absinken steigt. INOKO hat

dagegen bei Eingabe des Macleyins nur eine retardierende Wirkung auf die Tätigkeit des Warmblüterherzens gesehen.

Wir haben diesbezügliche Versuche mit Opiumprotopin und Macleyin an vollständig kurarisierten Kaninchen angestellt. Die beiden Substanzen rufen zunächst eine vorübergehende Druckerniedrigung hervor, deren Grund sehr wahrscheinlich in der direkten Wirkung der Gifte auf die Herzmuskulatur zu suchen ist. Darauf folgt ein langes Stadium der Druckerhöhung, die unabhängig von den Krämpfen durch die reizende Wirkung der Gifte auf das Gefässnervenzentrum bedingt wird und einen deutlich remittierenden Charakter hat. Wiederholt man die Einverleibung der Gifte, so macht schliesslich diese Druckerhöhung einem allmählichen Sinken Platz. Die Erscheinung ist demnach dieselbe, die v. ENGEL bei Protopin beobachtet hatte. Der folgende Versuch diene als Beispiel.

Versuch 7. — 1 Juni.

Kaninchen von 2500 g. Tracheotomie. Rechte Carotis mit Kanüle versehen.

Zeit.	Mittlerer Blutdruck in mm. Hg.	Pulsfrequenz in 10 Sek.	Bemerkungen.
10 h. 39' 50''	108	49	
10 h. 40'	—	—	Injektion von 1 ccm. Kurare-Lösung (1 °/₀) in die linke Ohrvene. Künstliche Respiration.
11 h. 35' 18''	106	48	
11 h. 42' 4''	94	»	
11 h. 42' 8''	92	»	Injection von 0.03 g. Macleyin in die rechte Orhvene.
11 h. 42' 21''	104	47	
11 h. 42' 23''	92		
11 h. 42' 33''	110	43	
11 h. 42' 38''	96		Von 42' 38'' ab sinkt der Blutdruck allmählich.
11 h. 43'	35.5	10	Puls wird grösser.
11 h. 43' 12''	24.2	4	Puls nimmt an Grösse ab.
11 h. 44' 10''	33.2	14	
11 h. 45' 0''	27	19	
11 h. 45' 30''	50	»	Um 46' sinkt Blutdruck plötzlich von 43 mm. auf 32 mm., um wieder die erste Höhe zu erreichen.
11 h. 46' 30''	61.2	25	Um 46' 20'' sinkt der Druck wieder vorübergehend von 48,4 mm. zu 39,4 mm.
11 h. 48' 4''	88.3	28	Druck steigt allmählich, leichte Schwankungen zeigend.
11 h. 50'	127.8	37	

Zeit.	Mittlerer Blutdruck in mm. Hg.	Pulsfrequenz in 10 Sek.	Bemerkungen.
11 h. 50' 12"	138.2	37	
11 h. 52' 6"	133	36	
11 h. 52' 16"	145	37	Maximaler Druckunterschied beträgt 38 mm.
11 h. 53' 20"	112.5	38	
11 h. 53' 30"	145.5	40	Maximaler Druckunterschied beträgt 61 mm.
11 h. 54' 10"	113	37	
11 h. 54' 20"	139.5	42	Maximaler Druckunterschied beträgt 54 mm.
11 h. 54' 50"	109.6	37	
11 h. 55'	132.5	41	Maximaler Druckunterschied beträgt 51 mm.
11 h. 55' 20"	109.6	38	
11 h. 55' 30"	144.3	39	Maximaler Druckunterschied beträgt 69.4 mm.
12 h. 5'	111.5	»	
12 h. 5' 9"	132	41	Maximaler Druckunterschied beträgt 40 mm.
12 h. 5' 30"	107	41	
12 h. 5' 40"	131.5	»	Maximaler Druckunterschied beträgt 53 mm.
12 h. 5' 56"	107	39	
12 h. 6'	133.5	41	Maximaler Druckunterschied beträgt 39 mm
12 h. 15'	110	41	
12 h. 15' 16"	115	»	Aussetzen der künstlichen Respiration.
12 h. 15' 28"	121	30	Keine Bewegung.
12 h. 15' 41"	129.5	23	» »
12 h. 15' 54"	109	36	Wiederbeginn der künstlichen Respiration.
12 h. 16'	133	41	Maximaler Druckunterschied beträgt 51 mm.
12 h. 16' 20"	109.5	40	
12 h. 16 36"	137	»	Maximaler Druckunterschied beträgt 64 mm.
12 h. 16' 50"	118	41	
12 h. 17' 40"	102.5	42	
12 h. 26' 48"	99.7	41	Tier macht keine Bewegung Injektion von 0,5 Kurare-Lösung in d. linke Ohrvene.
12 h. 35' 10"	100.5	40	
12 h. 41' 12"	101.8	41	
12 h. 45' 6"	91.7	40	

Zeit.	Mittlerer Blutdruck in mm. Hg.	Pulsfrequenz in 10 Sek.	Bemerkungen.
12 h. 45' 20''	91.7	40	
12 h. 45' 30''	91.4	»	Injektion von 0,03 g. Macleyin in d. rechte Ohrvene.
12 h. 45' 33''	132	—	Der Druck sinkt rasch.
12 h. 45' 56''	0	0	Tod.

III. — Schlussbemerkungen.

Aus den Resultaten der Tierexperimente, die wir in dem letzten Kapitel näher behandelt haben, ergibt sich zunächst, dass die Identität des in Macleya cordata enthaltenen, von EYKMAN Macleyin genannten Alkaloides mit dem Protopin, welches in Opium sowie in andern Papaveraceen gefunden wird, nunmehr eine auch durch pharmakologische Untersuchungen bestätigte Tatsache ist.

Weiter haben unsere Versuche einige neue Wirkungen des Protopins zu Tag gefördet. Es ist dies in erster Linie seine reizende Wirkung auf das medullare Krampfzentrum des Frosches.

Obwohl H. MEYER, wie schon oben bemerkt wurde, bei Fröschen eine solche Wirkung der Gifte der Kampher- und Protopingruppe leugnet, so weisen doch die Ergebnisse unserer Versuche mit Sicherheit darauf hin, dass diese wenigstens beim Protopin vorhanden ist. Eine solche Beeinflussung der Tiere durch das Protopin hat auch nichts Unwahrscheinliches an sich, da wir analoge Wirkungen bei einigen Morphiumderivaten kennen.

BARNES (1) hat gezeigt, dass die durch Behandeln des Morphinkaliums mit chloressigsaurem Kali entstandene Säure, die höchstwahrscheinlich Morphoxylessigsäure darstellt und pharmakologisch so gut wie unwirksam ist, durch Esterifizierung (Methyl und Äthyl) eine deutliche Giftigkeit annimmt. Die letztere besteht beim Frosch hauptsächlich in pikrotoxinartigen Krämpfen mit zugleich vorhandener Steigerung der Reflexerregbarkeit. Bei Warmblütern ruft dieser Körper ebenfalls charakteristische Krämpfe hervor, die aber von der Reizung des Hirnstammes, nicht von einer solchen der Medulla abhängig sein sollen.

Da diese krampferregende Wirkung der genannten Verbindung von dem Vorhandensein des Morphinkerns abhängig ist (l. c. S. 69.) so ist es

(1) BARNES : Archiv f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1901. Bd. 46. S. 68.

nicht unmöglich, dass eine ähnliche Wirkung auch den dem Morphin nahestehenden Opiumalkaloiden zukommt.

Als Muskelgift betrachtet nimmt das Protopin eine besondere Stellung ein. Es ist dadurch charakterisiert, dass der Muskel auf Einzelreize bei mässiger Belastung ganz normale Verkürzungskurven gibt, bei grösserer Belastung aber nur kleinere Hubhöhen zeigt, sodass die Arbeitsmaxima und die absolute Kraft der Muskeln im Verhältnis zur Norm stark vermindert sind. Besonders beachtenswert sind ausserdem die rasche Ermüdbarkeit und die unregelmässige Ermüdungskurve.

Zum Schluss wäre noch die Wirkung des Protopins auf den Zirkulationsapparat der Warmblüter zu erwähnen. Wir haben bei den Butdruckversuchen gesehen, dass der Druck nach der vorübergehenden Erniedrigung, die von der direkten Herzwirkung abhängig gemacht werden musste, periodisch sich wiederholende deutliche Steigerungen zeigt. Die letztere tritt auch dann ein, wenn die Tiere vorher vollständig kurarisiert waren, also weder Zuckungen der Muskelgruppe noch Zittern der Tiere wahrgenommen werden konnten.

Für den Kampher wurde darüber viel diskutiert, ob die periodische Drucksteigerung unabhängig von den Krämpfen, also bei vollständig kurarisierten Tierén eintrete oder nicht. Das positive Resultat von WIEDEMANN (1) wurde von WINTERBERG (2) und SELIGMANN (3) bestritten. Die beiden Autoren haben nur dann diese charakteristischen Blutdruckveränderungen gesehen, wenn, trotz der genügenden Kurarisierung, eine leichte Muskelzuckung, Zittern oder irgend eine andere Bewegungserscheinung wahrzunehmen war. SELIGMANN will sogar die periodische Drucksteigerung zum Teil der bekannten Kurarewirkung, die Reflexerregbarkeit der Gefässe steigern zu können, zuschreiben.

Da wir beim Protopin die Druckerhöhung an solchen Tieren beobachtet hatten, die keine Bewegungserscheinung und auch nach der Kurarisierung keine Druckschwankung zeigten, so sind wir geneigt anzunehmen, dass das Gefässzentrum durch Protopin unabhängig von den Krämpfen periodisch gereizt wird.

Was die übrigen Wirkungen des Protopins anlangt, so hat sie v. ENGEL in seiner oben mehrfach zitierten Arbeit trefflich beschrieben, sodass es unnötig ist, sie hier zu wiederholen.

---

(1) WIEDEMANN : Archiv f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1877. Bd. 6. S. 216.

(2) WINTERBERG : Pflüger's Archiv. 1903. Bd. 94. S. 455.

(3) SELIGMANN : Archiv f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1903. Bd. 52. S. 334.

AUS DEM PHARMAKOLOGISCHEN INSTITUT DER DEUTSCHEN UNIVERSITÄT PRAG
DIRECTOR PROF. POHL.

Kritische Versuche zur Beurteilung der Iodalkaliwirkung

VON

M. U. C. MAX SGALITZER.

I.

Auf Grund der bisherigen litterarischen Angaben ist ein exaktes Bild über die Wirkung der Jodide auf den Stoffwechsel nicht zu entwerfen. H. v. BOECK (1), MAGNUS LEVY (2), F. PAGLIARI und G. REM. PICCI (3), ferner CEDERKREUTZ (4) haben in ihren Versuchen am Menschen *keine* Störungen des Stickstoffgleichgewichtes unter dem Einflusse therapeutischer Dosen von Jodpräparaten wahrnehmen können.

Im Gegensatz zu den genannten Autoren fanden RABUTEAU (5) und MILANESI (6) bei Jodkuren eine *Verminderung* der ausgeschiedenen

(1) H. v. BOECK: *Untersuchungen über die Zersetzung des Eiweiss des Menschen unter dem Einfluss von J und* Hg. Zt. Biol. 5, 393, 1869.

(2) MAGNUS LEVY: *Untersuchung über die Schilddrüsenfrage;* Zt. klin. Med. 33,269, 1897, und *Ueber Myxœdem.* Zt. klin. Med. 52,201, 1904.

(3) F. PAGLIARI und G. REM. PICCI: *Ueber den Einfluss von* JK *auf den Stoffwechsel. Poliklin.* 1895. Zit. n. O. LOEWI, Handb. d. Path. d. Stoffw., herausgegeben v. v. Noorden, 2. Aufl. 2. B. 15. Kap.

(4) CEDERKREUTZ: *Beiträge zur Kenntnis der Stickstoffwechsels in der Frühperiode der Syphilis, nebst Untersuchungen über die Einwirkung therapeutischer* Hg *u.* J K*gaben auf den Stoffwechsel der Menschen.* Inaug. Dissert. Breslau 1902; Zit. n. O. LOEWI, Handb. d. Path. d. Stoffw., herausgegeben v. v. Noorden, 2 Aufl. 2 Band. 15. Kap.

(5) RABUTEAU: Gaz. hebdom. 1869, Nr. 9, pag. 133.

(6) MILANESI: *Della scemata quantità dell'urea nell'orina per effetto dell'joduro di Potassio.* Pavia 1873.

Harnstoffmenge, während Henrijean und Corin (1) die Stickstoffmenge unter dem Einfluss therapeutischer Dosen von Jodnatrium ansteigen sahen und daraus auf einen vermehrten Eiweisszerfall schliessen.

Diese Angaben gestatten nicht von einer *sichern* Wirkung der Jodide quoad Stickstoffausscheidung zu sprechen.

Der Grund für die Verschiedenheit der Resultate ist zum Teil darin zu suchen, dass die angewendeten NaJ-Mengen zu klein sind, um den Eiweisstoffwechsel derart zu beeinflussen, dass man aus den Stickstoffzahlen des Tagesharns einen Schluss auf die Wirkung des NaJ hätte ziehen können. Ein weiterer Grund für die mangelnde Uebereinstimmung der Resultate mag auch darin gelegen sein, dass nach Darreichung verschieden konzentrierter Lösungen das, was als spezifische Jodwirkung angesehen wurde, in einzelnen Versuchen nur Salz, — in andern wieder Wasser — wirkung war.

Ein Rückschluss aus den vorliegenden Versuchen ist umso schwerer möglich, als ein wesentlicher Grundsatz, dessen Bedeutung wir für die Erforschung der Salzwirkung kennen gelernt haben, meines Wissens bei ihnen ganz ausser Acht gelassen worden ist. Ebenso, wie ein Vergleich der Salze quoad Diurese erst möglich geworden ist, als man nicht prozentisch gleiche, sondern *aequimoleculare* Lösungen zugeführt hat, ebenso ist ein Einblick in die Stoffwechselwirkung erst mit Berücksichtigung dieser Bedingungen zu erwarten.

Durch diese Versuchsanordnung wird die Jodionwirkung gegenüber den kolligativen Salzphaenomenen in Erscheinung treten.

In meinen am Kaninchen durchgeführten Versuchen lege ich nur Wert auf die Stickstoffzahlen des der Salzzufuhr folgenden oder zweitnächsten Tages, da die Tiere nach dieser Zeit nicht mehr die normale Hafermenge fressen, ein Uebelstand, den ich aber nicht nur nach Zufuhr grosser sondern auch kleiner Jodnatriummengen beobachten konnte. Ich habe deshalb, mich somit bewusst von den üblichen niedrigen therapeutischen Dosen entfernend, um extreme Wirkungen zu sehen, meinen Versuchstieren stets nur grosse Mengen dieses Salzes zugeführt, durchschnitlich 1.2 g. pro 1 kg. Tier (24 cm^3 1/3 Molekul. Lösung NaJ), Dosen, welche die Tiere gewöhnlich nach wenigen Tagen töteten, die aber auch, falls das Jodion irgend einen Einfluss auf den Eiweisstoffwechsel hat, diesen deutlich zur Anschauung bringen mussten.

Die Kaninchen wurden schon lange vor der Versuchszeit bei Haferkost gehalten. Das Chlor- Brom- wie Jodnatrium habe ich den Tieren stets in Form von subkutanen Injektionen, und zwar von 1/3 Molekular-

(1) Henrijean et Corin : *Recherches expérimentales sur l'action physiologique et thérapeutique des iodures.* Arch. intern. de pharmacodyn. II. 1896.

lösungen, zugeführt, also 1.95 %ige Chlornatrium, 3.43 %ige Bromnatrium, 5 %ige Jodnatriumlösungen (auf krystallwasserfreie Salze berechnet). Der Harnstickstoff wurde nach Kjeldahl bestimmt. In jenen Fällen, wo im Harn Eiweiss vorhanden war, wurde es vor der Stickstoffbestimmung durch Koagulation entfernt.

Die Resultate dieser Untersuchungen sind in folgender Tabelle zusammengestellt. Zu deren Verständnis sei angeführt, dass die Angaben über die Zunahme oder Verminderung der Stickstoffausscheidung aus den Mittelwerten zwischen den 3 Normaltagen und den 2 Krankheitstagen berechnet sind.

Tabelle über die Stickstoffausscheidung nach Injektion aequimolekularer Salslösungen.

	Datum.	24 Stünd. Harnmenge in cm³	24 Stünd. N-Menge in g.	Gewicht des Tieres in g.	
					I.
Kaninchen 1	30/1	25	0.69	1690	
	31/1	24	0.70	1690	
	1/2	26	0.68	1690	40 cm³ 1/3 Molekul. *NaCl.* 23.6 cm³ pro 1 kg. (0.46 g. pro 1 kg.).
	2/2	58	0.64	1680	*Stickstoffabnahme um 4.4 %.*
	3/2	29	0.68	1685	
	6/2	26	0.68	1695	
	7/2	26	0.70	1695	
	8/2	27	0.69	1695	40 cm³ 1/3 Molekul. *NaBr.* 23.5 cm³ pro 1 kg. (0.806 g. pro 1 kg.).
	9/2	105	0.69	1640	*Stickstoffabnahme um 1.5 %.*
	10/2	31	0.67	1645	
Kaninchen 2	1/2	30	0.76	1700	
	2/2	29	0.74	1700	
	3/2	31	0.75	1700	40 cm³ 1/3 Molekul. *NaJ.* 23.5 cm³ pro 1 kg. (1.176 g. pro 1 kg.)
	4/2	102	0.58	1620	*Stickstoffabnahme um 20.7 %.*
	5/2	80	0.61	1580	Tod am 6/2. Die Leber is stark verfettet.
Kaninchen 71	14/6	27	0.73	1625	
	15/6	25	0.73		
	16/6	28	0.73	1620	38.1 cm³ 1/3 Molekul *NaJ.* 23.5 cm³ pro 1 kg. (1.175 g. pro 1 kg.).
	17/6	92	0.86	1560	*Stickstoffzunahme um 20.5 %.*
	18/6	60	0.90	1520	Tod am 18/6. Die Leber is verfettet.

	Datum.	24 Stünd. Harnmenge in cm^3	24 Stünd. N-Menge in g.	Gewicht des Tieres in g.	
					II.
Kaninchen 73	15/6	30	0.87	1880	
	16/6	31	0.84	1875	
	17/6	30	0.86	1875	48 cm^3 1/3 Molekul. *NaCl.* 25.6 cm^3 pro 1 kg. (0.5 g. pro 1 kg.).
	18/6	61	0.86	1865	*Stickstoffabnahme um 2.6 %.*
	19/6	45	0.81	1870	
Kaninchen 4	5/3	27	0.49	1470	
	6/3	28	0.47	1470	
	7/3	30	0.47	1470	37.7 cm^3 1/3 Molekul. *NaJ.* 25.6 cm^3 pro 1 kg. (1.28 g. pro 1 kg.).
	8/3	95	0.48	1365	*Stickstoffzunahme um 0.6 %*
					Tod am 8/3, 30 Stunden nach der Injektion. Die Leber ist stark verfettet.
Kaninchen 10	12/3	26	0.70	1565	
	13/3	29	0.73		
	14/3	28	0.69	1560	40 cm^3 1/3 Molekul. *NaJ.* 25.6 cm^3 pro 1 kg. (1.28 g. pro 1 kg.).
	15/3	98	0.77	1450	*Stickstoffzunahme um 6.1 %.*
	16/3	64	0.73	1395	Tod am 28/3. Normaler Sektionsbefund.
					III.
Kaninchen 74	16/6	32	0.94	1920	
	17/6	35	0.94		
	18/6	34	0.91	1920	31.9 cm^3 1/3 Molekul. *NaBr.* 16.6 cm^3 pro 1 kg. (0.569 g. pro 1 kg.).
	19/6	108	0.92	1865	*Stickstoffabnahme um 1.6 %.*
	20/6	39	0.91	1860	
Kaninchen 6	9/3	35	0.83	2400	
	10/3	33	0.84		
	11/3	32	0.82	2400	40 cm^3 1/3 Molekul. *NaJ.* 16.6 cm^3 pro 1 kg. (0.83 g. pro 1 kg.).
	12/3	118	0.95	2305	*Stickstoffzunahme um 14.5 %.*
					Tot am 14/3. Leber normal. Beiderseitig. pleurit. Exsudat.

	Datum.	24 Stünd. Harnmenge in cm³	24 Stünd. N-Menge in g.	Gewicht des Tieres in g.	
Kaninchen 9	11/3	34	0.91	2145	
	12/3	31	0.89	2150	
	13/3	33	0.90	2150	35.8 cm³ 1/3 Molekul. *NaJ.* 16.6 cm³ pro 1 kg. (0.83 g. pro 1 kg.)
	14/3	125	0.86	2045	*Stickstoffabnahme um 4.5 %.*
					Tod am 15./3. Leber stark verfettet.
			IV.		
Kaninchen 76	18/6	24	0.65	1630	
	19/6	25	0.64	1630	
	20/6	25	0.66	1630	28.4 cm³ 1/3 Molekul. *NaCl.* 17.4 cm³ pro 1 kg (0.339 g. pro 1 kg.).
	21/6	41	0.63	1625	*Stickstoffabnahme um 1.5 %.*
	22/6	32	0.65	1630	
Kaninchen 68	9/6	32	0.84	1720	
	10/6	35	0.81		
	11/6	31	0.85	1720	30 cm³ 1/3 Molekul. *NaJ.* 17.4 cm³ pro 1 kg. (0.87 g. pro 1 kg.).
	12/6	93	1.01	1635	*Stickstoffzunahme um 24.1 %.*
	13/6	44	1.05	1590	Tod am 21/6. Normaler Sektionsbefund.
			V.		
Kaninchen 78	24/6	24	0.52	1400	
	25/6	24	0.50		
	26/6	26	0.52	1400	28.5 cm³ 1/3 Molekul. *NaCl.* 20.3 cm³ pro 1 kg. (0.396 g. pro 1 kg.).
	27/6	53	0.49	1390	*Stickstoffabnahme um 3.5 %.*
	28/6	27	0.50	1400	
Kaninchen 70	12/6	28	0.69	1720	
	13/6	26	0.71		
	14/6	29	0.69	1720	35 cm³ 1/3 Molekul. *NaJ.* 20.3 cm³ pro 1 kg (1.017 g. pro 1 kg.).
	15/6	96	0.60	1650	*Stickstoffabnahme um 3.2 %.*
	16/6	48	0.75	1600	Das Tier erholt sich nach längerer Gewichtsabnahme.

	Datum.	24 Stünd. Harnmenge in cm³	24 Stünd. N-Menge in g.	Gewicht des Tieres in g.	

VI.

	Datum.	24 Stünd. Harnmenge in cm³	24 Stünd. N-Menge in g.	Gewicht des Tieres in g.	
Kaninchen 80	27/6	25	0.67	1605	
	28/6	27	0.65		
	29/6	25	0.68	1600	24 cm³ 1/3 Molekul. *NaCl.* 15 cm³ pro 1 kg. (0.293 g. pro 1 kg.).
	30/6	43	0.64	1600	***Stickstoffabnahme um** 3.9 %.*
	1/7	19	0.64	1600	
	2/7	22	0.65		
	3/7	24	0.65	1605	
	4/7	24	0.66	1600	24 cm³ 1/3 Molekul. *NaBr.* 15 cm³ pro 1 kg. (0.515 g. pro 1 kg.).
	5/7	69	0.63	1555	***Stickstoffzunahme um** 1.8 %.*
	6/7	38	0.70	1550	
Kaninchen 12	16/3	29	0.80	1875	
	17/3	31	0.79		
	18/3	30	0.81	1870	28 cm³ 1/3 Molekul. *NaJ.* 15 cm³ pro 1 kg. (0.75 g. pro 1 kg.).
	19/3	73	0.87	1800	***Stickstoffzunahme um** 9.4 %.*
	20/3	52	0.88	1770	Das Tier erholt sich nach einer 2 wochentlichen Gewichtsabnahme um 450 g.

VII.

	Datum.	24 Stünd. Harnmenge in cm³	24 Stünd. N-Menge in g.	Gewicht des Tieres in g.	
Kaninchen 81	22/6	25	0.54	1500	
	23/6	27	0.56	1500	
	24/6	24	0.57	1500	40 cm³ 1/3 Molekul. *NaCl.* 26.6 cm³ pro 1 kg (0.519 g pro 1 kg).
	25/6	45	0.53	1490	***Stickstoffabnahme um** 3.1 %*
	26/6	30	0.55	1500	
	29/6	26	0.56	1500	
	30/6	25	0.57		
	1/7	28	0.56	1500	40 cm³ 1/3 Molekul. *NaJ.* 26.6 cm³ pro 1 kg (1.33 g. pro 1 kg).
	2/7	81	0.65	1425	***Stickstoffzunahme um** 20.8 %*
	3/7	63	0.71	1380	Tod am 5/7. Normaler Sektionsbefund

	Datum.	24 Stünd. Harnmenge in cm^3	24 Stünd. N-Menge in g.	Gewicht des Tieres in g.	
			VIII.		
Kaninchen 20	25/3	25	0.59	1490	
	26/3	24	0.54	1500	
	27/3	25	0.55	1500	39.9 cm^3 1/3 Molekul. *NaCl*; 26.6 cm^3 pro 1 kg.
	28/3	54	0.52	1490	31.9 cm^3 1/3 Molekul. *NaCl*; 21.3 cm^3 pro 1 kg.
	29/3	59	0.54	1495	(Im Ganzen 0.933 g. pro 1 kg.).
	30/3	46	0.55	1495	*Stickstoffabnahme um 4.2 %.*
Kaninchen 19	25/3	31	0.85	1880	
	26/3	29	0.84		
	27/3	32	0.83	1880	50 cm^3 1/3 Molekul. *NaJ*; 26.6 cm^3 pro 1 kg.
	28/3	127	0.54	1790	40 cm^3 1/3 Molekul. *NaJ*; 21.3 cm^3 pro 1 kg.
	29/3	121	0.53	1720	(Im Ganzen 2.395 g. pro 1 kg.).
					Stickstoffabnahme um 36.3 %.
					Tod am 30/3. Leber stark verfettet.
			IX.		
Kaninchen 14	19/3	32	0.71		
	20/3	28	0.72	1710	
	21/3	29	0.72	1710	60 cm^3 1/3 Molekul *NaJ*. 35.1 cm^3 pro 1 kg. (1.75 g. pro 1 kg.).
	22/3	112	0.73	1620	*Stickstoffzunahme um 1.8 %.*
					Tod am 22/3, 30 Stunden nach der Injektion. Leber stark verfettet.
			X.		
Kaninchen 7	9/3	29	0.53	1520	
	10/3	25	0.54		
	11/3	26	0.52	1515	40 cm^3 1/3 Molekul. *NaJ*. 26.4 cm^3 pro 1 kg. (1.32 g. pro 1 kg.).
	12/3	112	0.47	1390	*Stickstoffabnahme um 13.2 %.*
	13/3	39	0.45	1375	Tod am 14/3. Leber mässig verändert.

	Datum.	24 Stünd. Harnmenge in cm3	24 Stünd. N-Menge in g.	Gewicht des Tieres in g.	
					XI.
Kaninchen 8	10/3	23	0.49	1235	
	11/3	25	0.46		
	12/3	24	0.47	1240	20 cm³ 1/3 Molekul. *NaJ.* 16.1 cm³ pro 1 kg. (0.806 g. pro 1 kg.)
	12/3	75	0.43	1170	*Stickstoffzunahme um 0.4 %.*
	14/3	29	0.52	1130	Tod am 15/3. Leber mässig verändert.

Die Versuche zeigen dass Lösungen von Chlor- und Bromnatrium nür unbedeutende Veränderungen im Eiweisstoffwechsel hervorrufen, was ich nicht nur aus dem Gleichbleiben der Stickstoffausscheidung schliessen darf, sondern auch aus dem Umstand, dass die Tiere keine oder nur eine geringe Gewichtsabnahme zeigen und die normale Hafermenge weiterfressen. Diese geringen Veränderungen bestehen beim Kochsalz in einer konstant auftretenden, aber unbedeutenden Verminderung in der Stickstoffausscheidung, eine Abnahme um durchschnittlich 3.3 %. Es ist also hier ein geringer Grad von Eiweissparung zu merken, wie sie schon W. STRAUB (1) für's Kochsalz, wenn es in grosser Wassermenge gelöst dem Körper zugeführt wird, nachgewiesen hat, wie sie aber auch für andere indifferente Salze, die in kleiner Konzentration dem Tiere injiciert werden, diesem also kein Wasser entziehen, nachgewiesen wurde. (2)

Unter dem Einflusse des Bromnatriums tritt keine Veränderung in der Stickstoffausscheidung auf, es wären denn ganz minimale Schwankungen, wie sie ja dem normalen Verhalten entsprechen. Dasselbe wurde auch von B. SCHULTZE (3), ferner von CHITTENDEN und CULBERT (4) für den Menschen nachgewiesen.

(1) W. STRAUB : *Ueber den Einfluss des* NaCl *auf die Eiweiszers.* Zt. Biol. 37, 527, 1899.

(2) E. ROST : *Ueber den Einfluss des Natronsalpeters auf den Stoffw. des Hundes.* Arb. d. kais. Gesundheitsamtes, 18, 78, 1901.

(3) B. SCHULTZE : *Ueber den Einfluss des* BrK *auf den Stoffw..* Zt. Biol, 19, 301, 1883.

(4) CHITTENDEN u. CULBERT : *Einfl. von* KBr. *u.* NaBr. *auf d. Stoffw.*, Transactions Connecticut Acad. 7, 1885; Zit. nach O. LOEWI, Handb. d. Path. d. Stoffw. herausgegeben von Karl von Noorden, 2. Band, 2. Aufl. 15. Kap.

Dagegen ergibt die Betrachtung der Jodnatriumversuche eine Einwirkung auf die Stickstoffausscheidung, die in einer oft sehr beträchtlichen, aber nicht in einer Richtung konstanten Aenderung derselben ihren Ausdruck findet; bald finden wir eine mehr oder minder bedeutende Vermehrung (in 6 Versuchen) oder Verminderung (in 4 Versuchen) oder auch ein Gleichbleiben (in 4 Versuchen, wobei die Vermehrung beziehungsweise Verminderung in der Stickstoffausscheidung bis zu 3.2 % noch als normale Schwankung angesehen wird) in der Stickstoffausscheidung.

Bei dem Versuche I wurden zwei Tieren gleiche Mengen Jodnatrium, auf's Kilo Kaninchen berechnet, subkutan injiciert; bei dem einen (2) tritt in den auf die Injektion folgenden zwei Tagen eine Verminderung in der Stickstoffausscheidung um 20.7 % ein, während im Gegensatz dazu beim andern Tiere (71), gerade eine Stickstoffvermehrung um 20.5 %, also ungefähr um dem gleichen Betrag erfolgt. Beim Vergleichstiere 1, dem erst gleichviel Moleküle Chlornatrium, eine Woche später gleichviel Moleküle Bromnatrium injiciert wurden, ist nur eine geringe Stickstoffabnahme gegenüber dem Normalen zu merken, im ersten Falle um 4.4 %, im zweiten um 1.5 %. An der vermehrten Stickstoffausscheidung bei Kaninchen 71 trägt keineswegs die Diurese Schuld, die ja bei Kaninchen 2 noch stärker ist, und doch ist hier eine bedeutende Stickstoffabnahme gegenüber dem Normalen zu merken. Stark diuretisch wirkt übrigens auch das Bromnatrium bei Kaninchen 1; trotzdem ist die Stickstoffausscheidung so ziemlich die gleiche wie am Normaltag.

Auch in Versuch II und III werden je zwei Tieren gleiche Mengen Jodnatrium, auf 1 Kilo Tier berechnet, injiciert. In Versuch II zeigt Kaninchen 4 ein ungefähres Gleichbleiben des Stickstoffs, während bei Kaninchen 10, das doch die gleiche Menge Jodnatrium bekommen hat, eine Stickstoffzunahme um 6.1 % zu merken ist. In Versuch III wiederum ist bei gleichen Mengen von Jodnatrium bei dem einen Tiere eine Abnahme, bei dem andern wieder eine Zunahme des ausgeschiedenen Harnstickstoffs wahrzunehmen. Die Kontrolltiere in beiden Versuchen, in dem einen Falle mit Chlor-, in dem andern mit Bromnatrium zeigen eine geringe Stickstoffverminderung gegenüber dem Normalen.

So wechseln auch in den weiteren Versuchsreihen bei den Jodnatriumtieren mehr oder minder grosse Stickstoffzunahmen mit bald grösseren bald kleineren Stickstoffabnahmen (bei VIII, 19 nach wiederholten Jodnatriuminjektionen bis zu 36.3 %), während bei den Kontrolltieren mit Chlornatriuminjektionen, wie erwähnt, stets ein geringer Grad von Eiweissparung wahrzunehmen ist. Bemerkenswert ist der Versuch VII, in dem, um den Einfluss der Individualität verschiedener Tiere auszuschliessen, an demselben Kaninchen (81) die Stickstoffausscheidung nach

Chlornatrium und später nach Jodnatriuminjektionen beobachtet wurde. Während nach der Kochsalzzufuhr eine Stickstoffverminderung um 3.1 % eintrat, stieg die Ausscheidung unter dem Einfluss von Jodnatrium um 20.8 % gegenüber dem Normalen an.

Die so sehr von einander differierenden Gesammtstickstoffzahlen des Tagesharns sagen uns nichts anderes, als dass Veränderungen im Eiweisstoffwechsel unter dem Einflusse dieses Salzes vor sich gehen können, doch sind sie schwankend und gehen der Gewichtsabnahme nicht parallel; sie geben keinen Aufschluss darüber, welche Gewebe der Zersetzung verfallen.

Die Stickstoffbestimmung ist kein erschöpfendes Mass für die Beurteilung des Gesammtstoffwechsels. Zu diesem Zwecke wäre auch eine genaue Kenntnis des Stoffwechsels der Kohlehydrate wie der Fette erforderlich. In dieser Richtung ist anzuführen: ich sah, wie später ausführlich beschrieben wird, unter dem Einflusse grösserer Dosen von Jodnatrium starke Leberverfettungen, wie sonst nur bei schwersten Phosphorvergiftungen, in kurzer Frist, oft nach nicht einmal 24 Stunden auftreten, Lebern, die einen Toluol-Acetonextrakt bis zu 53.19 % zeigten (Kaninchen 50). Und trotzdem blieben die Stickstoffzahlen in einzelnen Fällen die gleichen wie am Normaltage. Dieses Gleichbleiben am Tage nach der Injektion von Jodnatrium trotz starker im Laufe dieses Tages sich entwickelnder Leberverfettung ist vor allem schön bei Kaninchen 4 und 14 zu sehen, die beide ungefähr 30 Stunden nach der Injektion zu Grunde gingen und bei der Sektion eine vollständig verfettete Leber zeigten, die sich im Laufe des Tages, an dem keine Stickstoffsteigerung gegenüber dem Normalen zu merken war, ausgebildet haben muss.

In vielen Versuchen habe ich neben der Gesammtstickstoffbestimmung auch die Stickstoffverteilung im Harn untersucht. Doch auch dieses Verfahren hat keine in einer Richtung konstanten Veränderungen in der Form der Stickstoffausscheidung ergeben. Auch hier machen es die vielfach einander widersprechenden Resultate wahrscheinlich, dass das Jodnatrium selbst in den Dosen, wie ich sie verwendete, bei Kaninchen jedenfalls nur Störungen inconstanter Art hervorruft.

II.

Im Verlauf der Stoffwechselversuche mit Jodnatrium, das, wie ich mich überzeugte, kein jodsaueres Natrium enthielt, konnte ich meistens *Vergiftungserscheinungen* an den Kaninchen beobachten, unter denen die Tiere nach kurzer Zeit zu Grunde giengen. Bei der Sektion fanden sich schwere Veränderungen an verschiedenen Organen, vor Allem der Leber und den Lungen.

Wenn auch bereits vielfache Studien über die toxischen Wirkungen des Jods und seiner Verbindungen gemacht worden sind, so ist doch die Giftigkeit der Jodalkalien, dieser meist benützten Jodverbindungen, noch nicht scharf genug herausgehoben worden. Es scheint mir demnach nicht überflüssig zu sein, meine Erfahrungen hierüber mitzuteilen; sie mögen als kasuistische Erweiterung der klassischen Versuche von Binz (1) und Boehm (2) aufgefasst werden.

Das Auftreten der Vergiftungserscheinungen kündigte sich gewöhnlich durch eine zunehmende Trägheit in den Bewegungen des Tieres an. Es legt sich schliesslich auf die Seite und verharrt in dieser Lage. Dabei konnte ich vor Allem ein starkes Absinken der Temperatur wahrnehmen, das bis zum Tode immer mehr zunahm. Bei einem Tiere konnte ich 3 Stunden vor Eintritt des Todes eine Temperatur von 29° konstatieren. Auffallend ist die Pulsverlangsamung auf 1/3 oder gar 1/4 der normalen Frequenz. Ebenso nimmt auch die Zahl der Atemzüge rasch ab. Der Kopf wird nach rückwärts gezogen, das Maul ist meist weit geöffnet, die Nasenflügel sind erweitert, kurz ein Bild grösster Dyspnoe; zeitweise Trismus. Von Zeit zu Zeit beginnt das Tier spontan zu schreien. Dabei besteht eine grosse Schlaffheit der hintern Extremitäten. Eine leise Berührung des Tieres ruft Laufbewegungen, in einzelnen Fällen aber auch tetanische Krämpfe hervor. Beides tritt auch häufig spontan auf. Die Reflexe schwinden erst zum Schluss. Im Harn erscheint in einem Teil der Fälle Eiweiss, meist aber erst in Agone, ein Umstand, der es ausschliesst, die genannten Vergiftungssymptome etwa auf Niereninsuffizienz zu beziehen. Inzwischen sinkt der Blutdruck, den ich vor Eintritt der Vergiftungserscheinungen, bei Tieren, die schon einige Tage Jodnatrium bekommen hatten, normal fand, immer mehr und mehr. Die Pulswellen werden sehr klein und wenig ausgeprägt. Parallel dem kontinuierlich absinkenden Blutdruck kommt es zu einer Lähmung des Atemzentrums. Von einem eigentlichen narkotischen Zustand, wie ihn Binz (3) bei Vergiftungen mit Jodoform und Jodsäure bei seinen Versuchstieren stets beobachtete, und als dessen Ursache er das Freiwerden von Jod im Organismus ansieht, habe ich bei meinen Kaninchen nie etwas gesehen. In Gegenteil, die Reflexe waren stets lebhaft, bei der leisesten Berührung machen die Tiere Laufbewegungen, die übrigens, wie schon erwähnt, häufig auch spontan auftreten.

Die Dauer dieser Zustände ist sehr wechselnd : bald tritt schon im

(1) Binz : *Ueber Jodoform und über Jodsäure.* Arch. f. exp. Path. u. Pharm. VIII.
(1) Binz : *Toxikologisches über Jodpräparate.* Arch. f. exp. Path. u. Pharm. XIII.
(2) Boehm : *Beiträge zur Pharmakologie des Jod.* Arch. f. exp. Path. u. Pharm. V.
(3) L. c.

Verlauf einer Stunde nach dem Auftreten dieser Symptome der Tod ein, bald erst nach 24 Stunden oder gar noch später. Meine anfängliche Vermutung, dass vielleicht eine infolge der starken Diurese eintretende Wasserverarmung des Blutes mit eine wichtige Todesursache sein könnte, erwies sich als unrichtig. In vielen Fällen habe ich den Wassergehalt des Blutes vor und nach der Jodnatriuminjektion untersucht und gleich gross gefunden. Der Wasserverlust wird durch vermehrtes Trinken wieder aufgehoben.

In einer kleinen Zahl von Versuchen treten bei gleichgrossen Gaben von Jodnatrium andere Erscheinungen auf. Es kam ein oder zwei Tage nach der subkutanen Injektion zu sehr starken Diarrhoeen, die Tiere gingen rapid im Gewichte herunter, frassen gar nichts mehr und gingen nach weiteren zwei bis drei Tagen unter Inanitionserscheinungen zu Grunde. Bei der Sektion waren gar keine pathologischen Veränderungen zu sehen, wie sie sonst bei der Jodnatriumvergiftung meist auftreten. Auch die Schleimhaut des Magens und des Darmes zeigten ein völlig normales Aussehen.

Die untere Jodnatriumdosis, welche die oben beschriebenen Vergiftungssymptome hervorruft, lässt sich schwer angeben, da die Giftempfindlichkeit der Tiere für dieses Salz eine sehr wechselnde ist. Die kleinste Menge, bei der ich die Symptome auftreten sah, war in einem Fall 0.81 g NaJ pro 1 kg Kaninchen. Für gewöhnlich zog ich einer einmaligen Injektion wiederholte vor. Und zwar wurden ungefähr 1500 g schweren Kaninchen, gewöhnlich Vor- und Nachmittag je 1.5 g NaJ subkutan injiciert (das ist 1 g NaJ pro 1 kg), was so lange fortgesetzt wurde, bis die Vergiftungssymptome eintraten. Auch die Zeit, die bis zu deren Erscheinen verstreicht, währt bei verschiedenen Tieren verschieden lang. Bald treten sie schon im Laufe des ersten Tages ein, manchmal — freilich selten — erst nach 5 bis 6 Tagen, für gewöhnlich aber am 2ten oder 3ten Tage nach der Injektion.

Wie verschieden die Giftempfindlichkeit der Versuchskaninchen gegen Jodnatrium ist, ist auch aus Folgendem zu ersehen: den Kaninchen 10 und 11, die beide das gleiche Gewicht (1560 g) haben, werden auch gleiche Mengen Jodnatrium, nämlich 2 g (das sind 1.28 g auf's kg.) subkutan injiciert. Kaninchen 11 geht zwölf Stunden nach der Injektion zu Grunde, während Kaninchen 10 vierzehn Tagen hindurch im Gewicht immer mehr und mehr abfällt (bis zu 1010 g), bis es schliesslich zu Grunde geht.

Es liessen sich so noch viele Beispiele anführen, wo bei dem einen Tiere schon innerhalb 24 Stunden die Vergiftungssymptome auftraten, während sie bei dem gleich schweren Kontrolltiere nach fünfmal grossen Jodnatriummengen nach ungefähr einer Woche sich zeigten.

Bei kleinen Gaben von Jodnatrium sah ich die eben beschriebenen Vergiftungserscheinungen niemals auftreten. Vielmehr unterscheiden sich diese Tiere von normalen nur dadurch, dass sie im Gewichte stark abfallen und wenig fressen. Sie gehen schliesslich unter Inanitionserscheinungen zu Grunde. Zum Beispiel Kaninchen 23 (Gewicht 1300 g) bekommt durch 10 Tage täglich je 3 cm³ 1/3 Molekul. Lösung Jodnatrium subkutan injiciert, das sind täglich 0.15 g, oder 0.115 g pro 1 kg., also in 10 Tagen 1.5 g oder 1.15 g pro 1 kg. Das Tier, das in der Normalperiode 60 g Hafer gefressen hat, frisst am 5-6 Tag nur noch 15 g., am 8-9 Tag nur noch 3 g Hafer. Der Tod erfolgt unter Inanitionserscheinungen. Es waren keine Vergiftungssymptome zu beobachten und auch die Sektion ergibt einen völlig normalen Befund. Das Körpergewicht ging von 1300 g auf 910 g herunter. Im Harn war kein Eiweis nachzuweisen.

Bei Kaninchen 39 wieder (Gewicht 1785 g), dem ich durch 19 Tage in täglich ansteigender Dosis bis zu einer Gesammtmenge von 8 g NaJ injicierte, also durchschnittlich täglich 0.24 g oder 0.13 g pro 1 kg sah ich einen Gewichtsabfall bis auf 1350 g. Nach den 19 Tagen wurde das Tier aus dem Versuch gesetzt und nach einem Monate war das Gewicht wieder auf 1600 g gestiegen. Die kontinuierliche Gewichtsabnahme während der Versuchszeit macht es wahrscheinlich, dass das Tier bei Fortsetzen der Jodnatriuminjektionen nach einiger Zeit zu Grunde gegangen wäre. Dem infolge der einmonatlichen Unterbrechung der Jodnatriumzufuhr wieder neugekräftigten Tiere vom Gewichte 1600 g wird nun durch 16 aufeinander folgende Tage je 0.5 g NaJ täglich gegeben, die letzten 2 Tage sogar 0.75 g, also 8.5 g in 16 Tagen, durchschnittlich täglich demnach 0.332 g à 1 kg Das Gewicht des Tieres nimmt in diesen 16 Tagen nur um 170 g ab. Der Versuch wird dann unterbrochen. Es ist hier bei diesem Kaninchen eine teilweise Gewöhnung an das Jodnatrium zu bemerken. In der ersten Versuchsperiode hatte das Tier um 435 g in 19 Tagen abgenommen, während es nur 0.13 g NaJ pro 1 kg täglich bekommen hatte. In der zweiten Versuchsperiode nimmt es in 16 Tagen nur um 170 g ab, während es durchschnittlich täglich 0.332 g NaJ pro 1 kg bekommt, also eine viel grössere Menge als in der ersten Versuchszeit.

Kaninchen 21 (Gewicht 1510 g) bekommt durch 10 Tage je 0.25 g NaJ, also 0.165 g pro 1 kg im Ganzen 2.5 g NaJ oder 1.65 g pro 1 kg. Der Tod tritt am 10. Tag ein. Das Gewicht beträgt 1020 g. Auch hier sind keine Vergiftungserscheinungen zu beobachten, nur ein Bild äusserster Entkräftigung. In ähnlicher Weise verlief noch eine grössere Anzahl von Versuchen.

Wie ich schon kurz erwähnt habe, sah ich nach der Injektion von

grösseren Jodnatriummengen sehr häufig schwere Veränderungen verschiedener Organe, vor allem der Leber und der Lungen auftreten. Doch stehen die von mir beschriebenen nervösen Vergiftungssymptome in keinem kausalen Zusammenhange mit den pathologischen Veränderungen dieser Organe. Denn wiederholt sah ich auch in jenen Fällen, bei denen bei der Sektion ein vollständig normaler Befund beobachtet wurde, kurz vor dem Tode die typischen Vergiftungssymptome auftreten.

Die Leber war in ausgesprochenen Fällen infolge von *Verfettung* ganz gelb, wie die hochgradigste Phosphorleber, und sehr brüchig. In weniger ausgesprochenen Fällen war entweder eine gleichmässige braungelbe Verfärbung zu sehen, oder die Leber schien gesprenkelt; die normale braune Farbe war dann allenthalben durch eine grosse Anzahl graugelber Herde unterbrochen. Bei Darreichung grösserer Gaben von Jodnatrium tritt diese Leberveränderung, die weiter unten eingehender besprochen werden soll, in 69 % der Fälle auf. Auch hier lässt sich wieder, ebenso wie für die Vergiftungssymptome, keine untere Grenze der Jodnatriummenge angeben, die die Entstehung der Leberverfettung begünstigt. In einem Ausnahmsfalle trat sie schon bei einmaliger subkutaner Injektion von 0.81 g NaJ, auf 1 kg Tier berechnet, auf. Die grösste Wahrscheinlichkeit fürs Auftreten der Verfettung ist dann vorhanden, wenn das Jodnatrium in gleichen Mengen und in mehreren Injektionen dem Tiere subkutan zugeführt werden wird, wie es schon bei Beschreibung der Vergiftungssymptome angegeben wurde. Doch treten, wie aus folgenden erhellt trotz grosser Dosen häufig keine pathologischen Veränderungen auf.

So bekam Kaninchen 46 (Gewicht 1670 g) durch 5 Tage je 2.3 g NaJ (1.3 g pro 1 kg), im Ganzen also 11.5 g. Am 6. Tage geht das Tier zwar unter den typischen Vergiftungserscheinungen zu Grunde, doch ergibt die Sektion einen vollständig normalen Befund.

Kaninchen 57 wieder (Gewicht 1970 g) erhält durch 4 Tage jedesmal 3 g NaJ (1.52 g pro 1 kg), im Ganzen also 12 g. Am 5. Tag geht das Tier zu Grunde. Bei der Sektion sind keine pathologischen Veränderungen an den Organen wahrzunehmen. Die Todesursache in diesen zwei Fällen, ebenso wie in meinen übrigen Versuchen, mit Ausnahme der wenigen mit plötzlich auftretendem Lungenoedem, ist jedenfalls eine grob anatomisch nicht nachweisbare Schädigung des Centralnervensystems, worauf ja die Vergiftungserscheinungen hinweisen.

Leberverfettungen habe ich wiederholt auch beim Hunde gesehen, allerdings erst nach sehr grossen Gaben von Jodnatrium. So bekam ein Hund vom Gewichte 6000 g 65 g NaJ in 15 Tagen subkutan injiciert, also durchschnittlich täglich 4.33 g NaJ (0.72 g pro 1 kg). Das Tier wurde dann getötet. Die Leber zeigte einen starken Grad von Verfettung. Ich

will hier erwähnen, dass BOEHM (1) als tödliche Dosis für den Hund bei intravenösen Injektionen 0.76 bis 0.8 g. NaJ pro 1 kg. Tier angibt, eine Dosis, die zwar bei meinen subkutanen Injektionen an einem Tag nicht ganz erreicht wurde, doch in der ganzen Versuchszeit von 15 Tagen ungefähr um das 13 fache überschritten wurde. Fettige Veränderungen der Leber treten nach den bekannten Versuchen von BINZ (2) auch nach Darreichung anderer Jodpräparate, und zwar des Jodoforms und des jodsaueren Natriums auf, was auch HÖGYES (3) beobachtete.

Wichtige Veränderungen betreffen ferner die Lungen. Sie waren meist mehr oder minder stark hyperaemisch. In 14 % der Kaninchenversuche fand ich ein Exsudat in beiden Pleurahöhlen, häufiger sah ich es beim Hunde auftreten, wie es ja auch schon BOEHM (4) bei seinen Hundeversuchen nach intravenösen Injektionen von Jodnatrium konstatieren konnte. In einem kleinen Teil dieser Fälle war der Exsudat so stark, dass die Lungen ganz komprimiert wurden, und die Tiere zweifellos an Erstickung zu Grunde gegangen waren. Gewiss auffallend ist die Entstehung eines Exsudates bei Tieren, denen doch ein Salz, das die Diurese ungemein befördert, gegeben worden war. Umso auffallender ist der Jodnatriumvergiftungsversuch bei Kaninchen 47 (Gewicht 1550 g.), dem aus hier nicht weiter zu erörternden Gründen nichts zu trinken gegeben wurde und bei dem nach einer Injektion von 5 g NaJ (in zwei Dosen) nach zwei Tagen bei der Sektion neben der stark veränderten Leber, ein beiderseitiges überaus stark entwickeltes pleuritisches Exsudat zu sehen war, das die Lungen vollständig komprimierte. Die Exsudate waren stets serös, stark jodalkalihältig und geronnen, kaum dass der Thorax geöffnet worden war, zu einer sulzigen Masse. In einigen Fällen fand sich auch Lungenödem, das übrigens auch wiederholt von BOEHM (5), und HENRIJEAN und CORIN (6) beobachtet wurde, während sie über Leberverfettungen an ihren Versuchstieren nichts mitgeteilt haben. Bei einem Kaninchen, einem 1570 g schweren Tiere, dem 2 g NaJ in 40 cm^3 Wasser auf einmal injiciert worden waren, trat schon 12 Stunden nach der Injektion der Tod infolge Lungenödems auf. Die Leber zeigte hier schon den Beginn einer Gelbfärbung. Merkwürdig ist es, dass seröse Ergüsse stets nur innerhalb der Pleurahöhlen zu sehen waren, niemals aber in der Peritoneal- oder einer Gelenkshöhle.

---

(1) BOEHM : L. c.

(2) BINZ : L. c.

(3) HÖGYES : *Anmerkungen über die physiologische Wirkung des Jodoforms und über seine Umwandlung im Organismus.* Arch. f. exp. Path. u. Pharm X.

(4) BOEHM : L. c

(5) BOEHM : L. c.

(6) HENRIJEAN et CORIN : L. c.

Die Magen und Darmschleimhaut erwies sich bei der Sektion stets als völlig normal, während sie BINZ (1) bei seinen Versuchstieren nach tödlichen Dosen von Jodoform und jodsauerem Natrium stark gerötet fand, die Magenschleimhaut ausserdem mit Geschwüren und zahlreichen Ecchymosen bedeckt, als deren Grund er das Freiwerden von Jod im saueren Magengewebe ansieht. In einer kleinen Zahl der Fälle fand ich den Darm vollständig erfüllt mit schleimig sulzigen Massen.

Der Nierenbefund war ein sehr wechselnder. Gewöhnlich war die Niere sehr blass und blutarm, manchmal aber auch sehr stark hyperaemisch.

Die Nebennieren fand ich normal. Auch ihr Extrakt wirkt auf den Froschbulbus pupillenerweiternd ein, wie der von Nebennieren der Normaltiere.

Aortenveränderungen, die HEDINGER und LOEB (2) in einzelnen Fällen bei ihren Kaninchenversuchen nach Jodkaliumverabreichung auftreten sahen, habe ich nicht gesehen.

Das Auftreten der Leberverfettungen konnte ich in einigen Fällen schon sehr frühzeitig beobachten. So wurde dem Kaninchen 61 (Gewicht 1700 g) 3 g NaJ subkutan injiciert; 16 Stunden später wurde das Tier laparotimiert, um eine Gallenfistel anzulegen; die Leber zeigte eine gelbe Verfärbung. Sieben Stunden nach der Operation wurde das Tier getötet, die Leber augespült und durch feine Siebe hindurchgepresst, um sie vom Bindegewebe zu befreien und getrocknet. Das trockene Leberpulver wurde hierauf mit Toluol und Aceton extrahiert. Der Gesammt-Extrakt betrug 38.94 % des Gewichtes des trockenen, blutleeren Leberpulvers, während er bei einer gleichbehandelten Normalleber nur durchschnittlich 16 % beträgt.

Dem Kaninchen 5 (Gewicht 2430 g) werden 3.25 g NaJ subkutan auf einmal injiciert. Zwanzig Stunden später ist das Tier tot, die Leber vollständig verfettet. Beim Kaninchen 11 wiederum (Gewicht 1570 g), das eine Injektion van 2 g NaJ bekommt, tritt der Tod infolge Lungenödems schon nach 12 Stunden ein, und doch ist schon jetzt eine beginnende Gelbfärbung der Leber deutlich wahrzunehmen.

Die NaJ-Fettleber war stets, auch in getrocknetem Zustande, bedeutend schwerer, ihr Durchschnittsgewicht viel grösser, als das der normalen Leber von gleich grossen Normaltieren. Ein Mass für die Grösse der Verfettung bot mir der Wert des schon vordem erwähnten Extracts aus dem blutleeren, trockenen, vom Bindegewebe befreiten Leberpulver. Der

---

(1) BINZ: L. c.

(2) LOEB: *Ueber Aortenveränderungen bei Kaninchen nach subkutaner IKverabreichung*. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. LVI.

grösste Toluol-Acetonextrakt, den ich fand, betrug 53.19 %. (Bei der normalen Leber ungefähr 16 %). Es war das bei dem Kaninchen 50, dem ich im Verlaufe zweier Tage im Ganzen 5 g NaJ subkutan injiciert hatte. Der Tod erfolgte schon am 2 Tage, 32 Stunden nach der ersten Injektion. Die Leber erschien bei der Sektion makroskopisch braungelb, also nicht vollständig gelb, wie ich es sonst häufig beobachten konnte. Ich vermutete also einen dem Normalen gegenüber nur gering vermehrten Toluol-Acetonextrakt zu finden, was sich nicht bestätigte. Es kann eben aus dem Aussehen, aus der Verfärbung der Leber kein Schluss auf den Grad der Verfettung gezogen werden. Ein Mass für die Grösse ihrer Verfettung geben uns nur die Wägung des Extracts und eventuell die mikroskopischen Beobachtungen.

Die *mikroskopischen* Untersuchungen nahm ich stets an frischen Lebern vor, die am Gefriermikrotom geschnitten und dann sowohl mit Sudan und Haematoxylin, als auch mit Methylviolett gefärbt wurden. Als auffallender Unterschied von den Phosphorleber ist hier bei den Präparaten der Jodnatriumfettleber schon bei oberflächlicher Betrachtung zu merken, dass die Fettablagerung eine ganz ungleichmässige ist. Einige Leberläppchen enthalten überhaupt kein Fett, andere weisen einen mässigen Gehalt auf, andere sind prall davon erfüllt. In manchen Lebern ist das Fett in Form feinster Tröpfchen abgelagert, in andern wieder in Form grosser die Zellen ausfüllender Kugeln. Auffallend war einigen Lebern die Fettablagerung besonders um die Vena centralis herum, in andern wiederum schienen vor Allem die Zellen um die Venae interlobulares davon erfüllt. An vielen Stellen ist in dem Präparaten auch *Nekrose* zu sehen, schlechtgefärbte Kerne, kernlose Zellen, zerfallenes Zellprotoplasma. Diese letzteren Veränderungen waren vor Allem in hohem Masse bei Fettlebern solcher Tiere zu finden, denen grössere Gaben Jodnatrium durch mehrere Tage injiciert wurden, bis endlich am 4, 5 oder 6 Tage der Tod eintrat, somit Tiere, die eine grosse Widerstandsfähigkeit gegen das Gift gezeigt hatten, bei denen also das Jodion längere Zeit als gewöhnlich seine zerstörende Wirkung auf den Organismus entfalten konnte. Bei den Kaninchen dagegen, welche einen oder zwei Tage nach der ersten Injektion schon zu Grunde gingen, war zwar meist ein sehr hoher Fettgehalt in den Leberzellen wahrzunehmen, doch waren selten Nekrosen oder schlecht gefärbte Kerne zu sehen. Wie schon erwähnt traten die Leberveränderungen nur in 69 % meiner Jodnatriumvergiftungsversuche auf. In jenen Fällen nun, in denen trotz grosser Jodnatriuminjektionen makroskopisch an der Leber keine Veränderungen wahrzunehmen waren, waren auch mikroskopisch weder Verfettungen noch Nekrosen zu beobachten.

III.

Die schweren Leberveränderungen bei der Jodnatriumvergiftung liessen daran denken, dass es zu Funktionsstörungen in diesem Organ komme. Aus diesem Grunde habe ich verschiedene Versuche ausgeführt, die darauf ausgehen, einige Funktionen dieser Fettleber zu prüfen, und zwar *a/* die *Gallensekretion* am lebenden Tiere, *b/* die Fähigkeit zugesetzte Stoffe zu *oxydieren* (am überlebenden Organ des getötenen NaJtieres).

a/ Ich legte auf folgende Weise Gallenfisteln an : das Tier wurde unter allen Vorsichtsmassregeln laparotomiert und in den ductus choledochus an seiner Einmündung ins Duodenum eine gebogene Glaskanüle eingeführt, durch eine Ligatur darin fixiert und hierauf die Bauchhöle wieder zugenäht. Das Tier bleibt während der Versuchszeit (7 Stunden), sowie bei der Operation zugedeckt auf dem Brett augespannt, und die aus der Kanüle heraustropfende Galle wird in einem Messzylinder aufgefangen. Da das Volumen der Gallenblase bei den Kaninchen stets so ziemlich das gleiche ist, war es nicht nötig auch den ductus cysticus zu unterbinden, bei dessen Aufsuchung ein Zerren und Drücken der Leber trotz der grössten Vorsichtsmassregeln nicht zu vermeiden ist, was aber bei der Einführung der Kanüle in den ductus choledochus ganz wegfällt. Den grössten Schwierigkeiten begegnete ich bei der Operation an den mit Jodnatrium vergifteten Tieren, die vielfach sehr geringe Widerstandfähigkeit zeigten. Schienen sie auch vor der Operation völlig normal zu sein, so trat doch in den meisten Fällen während der Verzuchszeit nach der Operation ein Kollaps, ähnlich wie bei Säurekaninchen, ein. Die Pulsfrequenz war dann gewöhnlich stark vermindert, die Atemzüge seltener und oberflächlicher. Auf diese Weise konnten nur die wenigsten Versuche verwendet werden, da bei verminderter Herztätigkeit keineswegs eine normale Gallensekretion stattfinden kann. Ich muss es als einen besonderen Glücksfall bezeichnen, dass es mir bei einem Tiere (Kaninchen 52), das schon durch längere Zeit unter Jodnatriumeinfluss stand, gelang, den Gallenfistelversuch durch 7 Stunden fortzuführen, ohne dass das Tier eine geringere Pulszahl oder verminderte Atemfrequenz gezeigt hätte. Ich habe natürlich nur jene Versuche hier in Betracht gezogen, in denen die Tiere durch die ganzen 7 Stunden die normale Pulsfrequenz und Atmung zeigten.

1/ *Normalkaninchen* 43 (Gew. 2150 g) secern. in 7 Stunden 25.5 cm^3 Galle.

2/ *Normalkaninchen* 44 (Gew. 2000 g) secern. in 7 Stunden 24 cm^3 Galle. Gesammttrockenrückstand 0.77 g.

3/ NaJ*kaninchen* 61 (Gew. 1900 g) secern. in 7 Stunden 39 cm^3 Galle. Gesammttrockenrückstand 0.72 g.

4/ NaCl*kaninchen* 46 (Gew. 1800 g) secern. in 7 Stunden 42 cm^3 Galle.

Dem Versuchstier 61 wurden 3 g NaJ subkutan injiciert; 16 Stunden später wird es behufs Anlegung einer Gallenfistel laparotomiert. Die Leber ist gelb verfärbt. Ihr Toluol-Acetonextrakt betrug, wie nach dem Tode des Tieres konstatiert werden konnte, 38.94 %. Die also schon stark verfettete Leber hat während der 7 Versuchsstunden keineswegs weniger Galle secerniert als eine Normalleber, im Gegenteil scheinbar weit mehr als diese. Doch geht dieses plus an secernierter Gallenflüssigkeit nur auf Rechnung der dem Körper zugeführten grossen Wassermenge. Die 3 g NaJ wurden dem Tiere nämlich in Form einer 1/3 Molekularlösung subkutan injiciert, also in 60 cm³ physiologischer Kochsalzlösung verteilt. Dass wirklich nur infolge des grossen Wassergehaltes des Körpers mehr Galle secerniert wurde, das beweisen die ungefähr gleich schweren Trockenrückstande der Gallenflüssigkeit im Versuch 2 und 3. Einen weiteren Beweis dafür liefert aber auch die, um ungefähr den gleichen Betrag vermehrte Galle bei Kaninchen 46, dem 20 Stunden vor Beginn des Versuches eine, der bei Kaninchen 61 injicierten Jodnatriumdosis aequimolekulare Kochsalzmenge, zugeführt wurde.

Bei Kaninchen 61 hat das Jodnatrium nur kurze Zeit seine Giftwirkung im Organismus entfalten können. Schon 16 Stunden nach der Injektion wurde der Gallenversuch begonnen. Die Leber war wohl verfettet, doch waren keine Nekrosen, kein Protoplasmazerfall vorhanden. Wenn auch bei einem Tiere, das kurze Zeit der Giftwirkung ausgesetzt war, keine Funktionsstörungen hinsichtlich der Gallensekretion zu beobachten waren, so könnten diese doch vorhanden sein bei einem Tiere, das schon längere Zeit unter Jodnatriumwirkung steht. Eine solche Gallensekretionsprüfung wurde bei dem schon erwähnten Kaninchen 52 vollführt. Bei diesem wurde eine etwas veränderte Versuchsanordnung durchgeführt.

Es wurden nämlich den Tieren knapp nach der Choledochusoperation 20 cm³ Kaninchengalle auf 35 cm³ physiologische Kochsalzlösung verdünnt intravenös durch die Vena jugularis injiciert. Damit die Gallenlösung keine Verlangsamung des Herzschlages hervorrufe, wurde noch 0.1 cm³ einer 1 %igen Atropinlösung zugemischt; die Pulsfrequenz, wie die Zahl der Atemzüge blieb dann während des Versuches die normale. Im Uebrigen wurden die Versuche in genau derselben Weise wie die vorher besprochenen durchgeführt.

1/ Das *Normalkaninchen* 48 (Gewicht 1900 g) secern. in 7 Stunden 52 cm³ Galle, also nach Abzug der injic. 20 cm³ Gallenflüssigk. 32 cm³, das sind 16.8 cm³ à 1 kg Tier.

2/ Das *Normalkaninchen* 55 (Gew. 1550 g.) secern. in 7 Stunden 44 cm³ Galle, also nach Abzug der injic. 20 cm³ Gallenflüssigk. 24 cm³, das sind 15.5 cm³ à 1 kg Tier mit 0.49 g Trockenrückstand.

3/ Das NaJ*kaninchen* 52 (Gew. 1240 g) secern. in 7 Stunden 27 cm³ Galle, also nach Abzug der injic. 20 cm³ Gallenflüssigk. 7 cm³, das sind 5.6 cm³ à 1 kg Tier mit 0.15 g. Trockenrückstand.

Dem Kaninchen 52 (Anfangsgew. 1540 g.) waren in 3 aufeinander folgenden Tagen je 2.5 g NaJ subkutan injiciert worden, also im Ganzen 7.5 g. Am 4. Tag. 30 Stunden nach der letzten Injektion, war bei dem Tier (es wog nur noch 1240 g) die Gallenfistel angelegt und die Gallensekretion durch 7 Stunden gemessen worden. Bei der Laparotomie erschien die Leber braungelb verfärbt. Wie schon erwähnt, ist das der einzige Gallenfistelversuch, der mir an einem Tiere gelang, das schon längere Zeit Jodnatriuminjektionen bekommen hatte. Es wurden hier während der 7 Versuchsstunden 27 cm³ Galle secerniert; es entfallen also nach Abzug der injicierten 20 cm³ auf 1000 g Tier 5.6 cm³ Galle, also ungefähr der dritte Teil der von 1 kg. Normaltier secernierten Gallenmenge; demnach ein recht erheblicher Unterschied gegenüber dem normalen Verhalten. Es zeigt also die Leber des Kaninchens 52, dass schon längere Zeit unter Jodnatriumwirkung steht, eine schwere Störung in der Gallensekretion; doch unterlasse ich es aus diesem einen Versuche weitere Schlüsse zu ziehen, um so mehr, als mir bewusst ist, dass bei der physiologischen Schwankung der Gallensekretion die gewonnenen Resultate nur als Näherungswerte anzusehen sind.

b/ Zu den oben erwähnten Oxydationsversuchen, die eine weitere Funktion der Leber prüfen sollen, wählte ich absichtlich Stoffe der Fettreihe, nachdem ja die Versuche des ersten Abschnittes im Gesamtorganismus für die stickstoffhaltigen Materialien keine in einer bestimmten Richtung konstanten Störungen ergeben haben. Ich wählte dazu die Oxydation des Formalins zu Ameisensäure.

Wie Pohl (1) nachgewiesen hat, besitzen die überlebenden Einzelorgane des Tierkörpers, vor allem aber die Leber des Warmblüters die Fähigkeit Methylalkohol, in höherem Masse aber Formaldehyd zu Ameisensäure zu oxydieren. Nun handelt es sich in meinen Versuchen vor allem darum, die Wirkung der Oxydationsfermente in gleichen Gewichtsmengen der Normalleber wie der Fettleber miteinander zu vergleichen. Ein direkter Vergleich ist unmöglich, da die Jodnatriumfettlebern einen dreimal so grossen Gehalt an Extraktivstoffen enthalten als die Normallebern. Es ist demnach in gleichen Gewichtsteilen der beiden Lebern in der normalen ein grösserer Gehalt an Eiweiskörpern vorhanden als in der verfetteten. Es kam mir daher die Methode von

(1) Pohl : *Uber die Oxydation des Methyl- und Aethylalkohols in Tierkörper.* Arch. f. exp. Path. u. Pharm. XXXI.

Wiechowski (1) sehr zu statten, die blutleeren überlebenden Organe von ihren Extraktivstoffen zu befreien, so dass das trockene Organpulver nur noch die Eiweisskörper, die Fermente und Salze enthält.

Die Lebern wurden möglichst bald nach dem Tode des Tieres mit 0.85 %iger Kochsalzlösung solange von der Vena cava inferior aus unter leichter Massage der einzelnen Leberlappen durchgespült, bis sie ganz blutleer waren. Mit der Schere wurden hierauf die Galle und das grobe Bindegewebe entfernt und die Leber hierauf durch feine Drahtsiebe hindurchgepresst, um auch das feinere Bindegewebe von der eigentlichen Organsubstanz zu trennen. Der Leberbrei, dem als Antiseptikum etwas Toluol hinzugefügt wird, wurde auf Glasplatten in dünner Schicht gestrichen und hierauf in trockener Luft bei 37° rasch getrocknet. Die Organmasse wurde hierauf abgekratzt und in der Reibschale fein zerrieben. Eine gewogene Menge dieses Organpulvers wird nun in einem von Wiechowski angegebenen Extraktionsapparat (2) in der Kälte mit Toluol und Aceton durch 2 Tage extrahiert. Das getrocknete Organpulver wird wiederum gewogen. Die Differenz der Gewichte vor und nach der Extraktion gibt uns den Gehalt an Extraktivstoffen an. Von dem abermals in der Reibschale zerriebenen jetzt von Extraktivstoffen freien Organpulver werden 2.25 g. in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und zu wiederholtenmalen durch die Farbreibmühle geschickt, bis das Organpulver auf's feinste zermalen in der physiologischen Kochsalzlösung vollständig emulsioniert ist. Im Messzylinder wird nun das Volumen auf 300 cm^3 angefüllt. Es enthalten dann 100 cm^3 der Flüssigkeit 0.75 g des extrahierten Organpulvers. 200 cm^3 dieser Flüssigkeit (sie entsprechen 1.5 g. Organpulver) werden nun in eine Literflasche gegossen, so dass das Gefäss also nur zu geringem Teil Flüssigkeit enthält, der übrige Teil aber von Luft erfüllt ist. Hinzu werden noch 2 cm^3 ameisensäurefreies Formalin gebracht, ferner 2 cm^3 einer 5 %iger Sodalösung, worauf die Flüssigkeit also eine 0,05 %ige Sodalösung bildet. Die ganze Flüssigkeit wird nun durch 6 Stunden bei 39° geschüttelt. Die Oxydasen verwandeln nun bei dieser Temperatur während des Schüttelns in Gegenwart des Luftsauerstoffs einen Teil des Formalins in Ameisensäure. Die Menge der enstandenen Ameisensäure gibt ein Mass für die Intensität der Wirkung der Oxydasen.

Aufgabe der folgenden Versuche ist es eben die Intensität der Wirkung der Oxydasen in gleichen Gewichtsteilen des extrahierten Leberpulvers des Normaltieres wie des unter Jodnatriumwirkung gestorbenen

---

(1) Wiechowski: *Eine Methode zur chemischen und biologischen Untersuchung überlebender Organe.* Beiträge zur chemischen Physiologie, herausgegeben v. f. Hofmeister, IX.

(2) Wird demnächst veröffentlicht werden.

Tieres zu vergleichen. Um jeden Fehler zu vermeiden, habe ich stets gleiche Gewichtsmengen des extrahierten Pulvers verwendet (1.5 g.), in gleichen Mengen physiologischer Kochsalzlösung (200 cm^3) emulsioniert, stets auch gleiche Mengen Sodalösung (2 cm^3 einer 5 %igen Lösung) und Formalin (2 cm^3) hinzugefügt und habe jedesmal durch 6 Stunden bei 39° mit dem Motor geschüttelt.

Der Inhalt der Flaschen wird nun gründlich ausgespült, und in einem Bruchteile der Flüssigkeit wird nach der Methode von Scala (1) die Ameisensäure quantitativ bestimmt.

Nach dieser Methode wird die Ameisensäurelösung bei schwach sauerer Reaktion mit dem gleichen Volumen kalt konzentrierter Sublimätlösung versetzt und nun auf dem Wasserbade ungefähr eine Stunde lang erhitzt. Es fällt hiebei und weiter beim Stehen in der Kalte das durch Reduktion aus dem Sublimat entstandene Kalomel aus, das nun auf gewogene Filter gebracht wird. Das Gewicht des Kalomels mit 0.09756 multiplicirt gibt das Ameisensäuregewicht in g.

Um auf diese Weise die durch die Einwirkung der Oxydasen auf das Formalin entstandene Ameisensäure quantitativ zu bestimmen, musste ich in der Emulsion notwendig die Ameisensäure von den Eiweiskörpern trennen. Da die Methode der Destillation der Ameisensäure etwas langwierig ist, um so zeitraubender dadurch, als nach der Destillation die grossen Wasserquantitäten, um eine Bestimmung der Ameisensäure möglich zu machen, erst auf dem Wasserbade eingeengt werden müssen, versuchte ich es auf folgende Weise die Trennung vorzunehmen: in eben schwachsauerer Lösung versetzte ich die Organemulsion in der Kälte mit kaltkonzentrierter Sublimatlösung, worauf die Eiweiskörper in Flocken ausfallen. Es wird nun im Eiskasten filtriert und mit der Sublimatlösung wiederholt nachgewaschen. Wie ich mich zu wiederholtenmalen durch Kontrollproben überzeugen konnte, fällt in der Kälte absolut kein Kalomel aus. Das Filtrat, das zumeist frei von Eiweisskörpern ist, wird nun nach der Methode von Scala (2) weiter behandelt. Nur in wenigen Fällen gelang es mir nicht, sämmtliche Eiweisskörper mit Sublimat auszufällen. Es wurde dann das Filtrat nach der Fällung mit Sublimat noch mit 97 %igem Alkohol im Überschusse versetzt, worauf auch die restlichen Eiweisskörper quantitativ ausfielen. Das Filtrat wurde dann nach der Methode von Scala weiter behandelt.

Im Kontrollversuche, wo gekochtes Leberpulver mit der gleichen Menge Formalins versetzt wurde, wurde niemals Ameisensäure gefunden, was gegenüber der Kritik Cervellos (2) über die Ameisensäurebildung

---

(1) Chemische Berichte. Band XXIII, Ref. 599.

(2) Gazetta chimica italiana, VI, 1907,

als entscheidend hervorgehoben sei. Gegenwart von Jodkali stört die Oxydation, wie ich mich überzeugen konnte, nicht.

Die Resultate dieser Untersuchungen sind in folgender Tabelle zusammengestellt :

Tier-Nummer.	NaJmenge u. in welcher Zeit.	Anfangs- u. Endgewicht des Tieres in g.	Tod nach wie viel Tagen und Leberbefund.	Prozentgehalt des blutleeren Leberpulvers an Extraktiv-stoffen.	Menge der von 1.5 g. Leberpulver gebildeten Ameisensäure-menge in g.
59	0	1600 —	—	15.28 °/o	0.0092
70	0	1100 —	—	16.05 °/o	0.0124
58	0	1300 —	—	15.93 °/o	0.0098
62	3.5 g in 2 Tagen	1320 1120	Nach 2 Tagen, Leber gar nicht verändert	13.78 °/o	0.0073
45	13 g in 6 Tagen	1710 1270	Nach 5 1/2 Tagen, Leber ein wenig verfärbt	24.15 °/o	0.0052
61	3 g in 1 Tag	1700 1620	Wird nach 24 Stunden getötet, die Leber is gelb	38.94 °/o	0.0043
54	4 g in 2 Tagen	1225 1090	Nach 2 Tagen, Leber ganz gelb	41.62 °/o	0.00
50	5 g in 2 Tagen	1490 1370	Nach 1 1/2 Tagen, Leber braungelb.	53.19 °/o	0.0007

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, beträgt das Gewicht der mit Toluol und Aceton extrahierbaren Organsubstanz bei der Leber der Normaltiere 58, 59 und 70 durchschnittlich 15.75 °/o des Gewichtes des blutleeren, trockenen, vom Bindegewebe freien Leberpulvers, und das Gewicht der von 1.5 g des extrahierten Leberpulvers unter den schon genannten Bedingungen aus Formalin gebildeten Ameisensäure durchschnittlich 0.0105 g.

Ganz andere Resultate weisen die unter gleichen Bedingungen ausgeführten Versuche mit dem Leberpulver der mit Jodnatrium vergifteten Tiere auf, freilich nur in jenen Fällen, in denen die Leber auch wirklich einen dem normalen gegenüber vermehrten Gehalt an Extraktivstoffen zeigte, was nur, wie ich schon erwähnt habe, in 69 °/o meiner Versuche

der Fall war. Keine Vermehrung an lipoiden Substanzen war z. B. bei der Leber des Kaninchens 62 vorhanden, nach einer Verabreichung von 3.5 g NaJ in 2 Tagen. Am Abend des 2 Tages ging das Tier zu Grunde. Die Sektion ergab an allen Organen normalen Befund. Der Toluol + Acetonextrakt des Leberpulvers war nicht vermehrt und auch die von 1.5 g des extrahierten Leberpulvers gebildete Ameisensäuremenge zeigte einen annähernd normalen Wert (0.0073 g).

Um ein Geringes vermehrt ist der Fettgehalt der Leber bei Kaninchen 45, das in 6 Tagen 13 g NaJ bekam und erst am Abend des 6 Tages zu Grunde ging, also eine ausserordentliche Widerstandsfähigkeit gegen das Gift zeigte. Die Leber war, wie bei der Sektion zu sehen war, kaum verändert. Ihr Extrakt war auch nur um ungefähr die Hälfte grösser als bei einer normalen Leber. Doch war die Leistungsfähigkeit der Oxydationsfermente dem Normalen gegenüber schon stark herabgesetzt. Es wurde nur die Hälfte des Gewichtes an Ameisensäure aus dem Formalin gebildet, als gleiche Gewichtsmengen des normalen Leberpulvers unter gleichen Bedingungen zu bilden im Stande sind.

Starke Verfettungen sind bei den Lebern der Tiere 61, 54, vor allem aber bei Kaninchen 50 zu sehen, bei dem der Extrakt 53.19 % beträgt, also mehr als die Hälfte des Gewichtes der Organsubstanz ausmacht. Eine schwere Schädigung haben in diesem Falle (50) auch die Oxydationfermente erfahren, die aus dem Formalin nur den fünfzehnten Teil der vom Normalleberpulver gebildeten Ameisensäure entstehen liessen. Eine starke Verminderung zeigt die Ameisensäurezahl auch bei Kaninchen 61, das schon nach 24 Stunden getötet wurde. Wäre der Vergiftung hier der normale Verlauf gelassen worden, wäre wohl der Prozentgehalt an Extrativstoffen noch gestiegen, das Gewicht der gebildeten Ameisensäure dagegen wohl noch kleiner gewesen. Die stärkste Schädigung aber haben die Oxydasen bei der Leber des Kaninchens 54 erfahren, wo die Fermente aus dem Formalin überhaupt keine Ameisensäure zu bilden im Stande waren.

Aus diesen Versuchen möchte ich vorderhand nicht mehr als die Anregung abstrahieren, die oxydative Potenz der Jodnatriumfettleber noch mit andern Stoffkategorien zu bestimmen, da eine selbst schwache Formalinlösung im Vergleiche zu den normalen Nährsubstanzen einen doch zu heterogenen Stoff darstellt.

Die vorliegenden Untersuchungen haben unter Anderem wohl das wesentliche Ergebnis, dass sie die schablonenhafte Deutung der Iodalkaliwirkung als unbedingte und alleinige Eiweiszersetzung *nicht* stützen und dass sie es wahrscheinlich machen, dass die therapeutischen Erfolge

mit diesem Salze eben auf einer anderen noch festzustellenden Elementarwirkung beruhen. Vielleicht würden Versuche am specifisch kranken Thiere, die ja jetzt möglich geworden sind, die gewilte Aufklärung bringen.

Prag 1907.

Istituto di Patologia speciale medica della R.ª Università di Palermo.

Influenza della atropina sulla glicogenolisi epatica

DI

ANDREA PITINI.

L'argomento della dipendenza della funzione glicogenica del fegato dal sistema nervoso è stato rischiarato dai lavori di numerosi sperimentatori i quali, partendo da considerazioni teoriche, hanno dimostrato che è l'attività nervosa che trasforma in glucosio il glicogeno della cellula epatica (Morat e Dufourt, Cavazzani, Eckardt, etc.).

L'idratazione del glicogeno verosimilmente avverebbe in certi momenti sotto l'influenza del sistema nervoso; perchè solo così il glucosio può giungere nel sangue proporzionatamente ai bisogni dell'organismo. La diastasi che presiede alla idratazione del glicogeno in glucosio aumenta o si forma sotto l'influenza dello stimolo nervoso ed esiste una protodiastasi che si cangia in diastasi attiva sotto l'influenza nervosa (Richet).

Dei fisiologi alcuni credono che tale processo sia dovuto all'azione di un fermento indipendentemente dalla cellula (Bial, Pick), altri ritengono sia invece sottoposto alla influenza del protoplasma degli elementi cellulari del fegato (Cavazzani).

Secondo il Bernard l'azione nervosa mette in contatto con il glicogeno un fermento preesistente che determina la formazione del glucosio.

Per quel che riguarda l'influenza dei differenti nervi si hanno i seguenti dati:

Morat e Dufourt ammettono che il X paio inibisce la funzione glicopoietica. Secondo questi autori il vago conterrebbe filetti stimolatori e filetti inibitori di detta funzione, così come contiene filetti acceleratori del cuore accanto a filetti moderatori più potenti. Boruttau ritiene che il vago eserciti una azione regolatrice.

Dubois ha notato che la sezione dei due pneumogastrici nell'addome determina iperglicemia, mentre che la sezione del simpatico addominale, dello splancnico, diminuisce la formazione di zucchero.

Molti autori ammettono che la funzione glicogenica è sottoposta a nervi secretori e non fa eccezione alle altre secrezioni organiche. Bernard ritiene che i nervi attivano la circolazione del sangue nel fegato, dilatano i vasi, aumentano l'azione del fermento sul glicogeno; l'aumento di circolo nel fegato porta aumento di formazione di glucosio. Egli si fonda sul comportamento della corda del timpano, la cui eccitazione produce aumento della secrezione salivare e circolazione più attiva nella ghiandola sotto mascellare. Però Heidenhain vide che nell'avvelenamento con atropina l'eccitamento del simpatico provoca la secrezione della ghiandola sotto mascellare, quantunque la circolazione sia notevolmente diminuita. L'eccitamento della corda del timpano, in questo caso, attiva la circolazione, ma non provoca più la secrezione. Anche il pancreas, funzionando normalmente il simpatico, continua a rispondere alle eccitazioni reflesse nell'animale atropinizzato.

Ora io ho voluto vedere quale effetto produce in un animale atropinizzato l'eccitamento del plesso celiaco per quel che riguarda la trasformazione del glicogeno in glucosio nel fegato.

Ho cominciato le esperienze determinando la quantità di glicogeno contenuta nel fegato di cani normali, tenuti nelle stesse condizioni di vita e di alimentazione degli animali da esperimento.

Per la determinazione del glicogeno ho adoperato il metodo di Brücke-Külz.

I.

Cane di kg. 5. È tenuto per quattro giorni in laboratorio, a riposo e a dieta costante di gr. 200 di pane e acqua a volontà.

Alle ore 12, dopo 4 ore dal pasto, si sacrifica per dissanguamento e subito dopo la morte si escidono gr. 50 di fegato.

Il glicogeno contenuto in gr. 50 di fegato è gr. 0,51.

Calcolato °/o gr. 1,02.

II.

Cane di kg. 8,500. Da alquanti giorni in laboratorio alla stessa dieta dell'animale precedente.

Alle ore 9 (14 ore dall'ultimo pasto) si uccide per dissanguamento e si estraggono appena avvenuta la morte gr. 46 di fegato.

Contenuto in glicogeno gr. 0,60.

Calcolato °/o gr. 1,30.

III.

Cagna di kg. 7,500; da due giorni in laboratorio - dieta come sopra.

Alle ore 10,25 si dissangua l'animale (aveva consumato metà della razione alimentare alle ore 7). Si prelevano gr. 55 di fegato.

Contenuto in glicogeno gr. 0,71.

Calcolato °/o gr. 1,29.

Stabiliti i valori in glicogeno del fegato di cani normali, in una prima serie di esperienze ho dosato il glicogeno epatico prima e dopo la eccitazione del plesso celiaco.

IV.

Cane di kg. 11. Si pratica la resezione di un pezzo di fegato, gr. 25 (A) e si applicano i reofori della corrente indotta sul plesso celiaco, a distanza 10. Si stimola per 20' e si prendono in seguito altri 25 gr. di fegato (B).

A contiene gr. 0,270 di glicogeno = °/o gr. 1,080.
B » » 0,222 » = °/o » 0,888.

V.

Cane di kgr. 7. Si asporta un lobo di fegato gr. 25 (A) e si stimola il plesso celiaco per 20' come sopra. Si escidono altri 25 gr. di fegato (B). L'animale muore e 19 ore dopo la morte si prelevano 25 gr. di fegato (C).

A contiene gr. 0,268 di glicogeno = °/o gr. 1,072.
B » » 0,210 » = °/o » 0,840.
C » » 0,098 » = °/o » 0,392.

In oltre esperienze ho stimolato il plesso celiaco dopo avere iniettato una dose elevata di atropina.

VI.

Cane di kg. 9,300. Si asportano gr. 30 di fegato (A) e si iniettano sotto cute 80 centigr. di solfato neutro di atropina in soluzione 1 °/oo. Dopo 10' dall' iniezione si stimola il plesso celiaco come sopra per 20. Si prelevano gr. 30 di organo (B) e dopo 19 ore altri gr. 30 (C).

A contiene gr. 0,380 di glicogeno = °/o gr. 1,260.
B » » 0,255 » = °/o » 0,850.
C » » 0,078 » = °/o » 0,260.

VII.

Cane di kg. 8,100. Si procede come sopra, asportando un pezzo di fegato gr. 45 (A); si iniettano cgr. 80 di solfato di atropina in soluzione 1 °/o. Dopo 13 minuti dalla iniezione si eccita il plesso celiaco per 20'.

Si asportano altri 45 gr. di fegato (B) e dopo 19 ore 45 gr. di fegato (C).

A contiene gr. 0,595 di glicogeno = °/o gr. 1,322.
B » » 0,312 » = °/o » 0,693.
C » » 0,093 » = °/o » 0,206.

Se diamo uno sguardo alle cifre ottenute si ricava che la stimolazione del plesso celiaco produce la diminuzione del glicogeno epatico, così come era stato osservato da Cavazzani, e da altri.

La diminuzione del glicogeno è più rilevante negli animali atropinizzati, rispetto agli animali normali.

A spiegazione di questo risultato si può trarre vantaggio dalla osser-

vazione sperimentale del Dubois che cio è la sezione del pneumogastrico addominale agisce nello stesso senso della eccitazione del simpatico addominale e dello splancnico accrescendo la formazione di glucosio a spese del glicogeno; e quindi la atropina, paralizzando il vago, produrrebbe nel nostro caso lo stesso effetto.

Se poi si prendono in considerazione comparativamente i valori di glicogeno residuale dopo parecchie ore dalla morte, si ricava che la glicogenolisi è più attiva nell'animale atropinizzato, essendo la quantità di glicogeno scissa dal fegato sano minore di quella scissa dal fegato avvelenato.

Ora poichè col cessare dei processi vitali non si può ammettere nuova formazione di fermento è necessario ammettere che la maggiore scomposizione di glicogeno sia dovuta a maggiore quantità di fermento precedentemente accumulatasi nel fegato.

Ed allora più che ammettere che l'azione nervosa mette in contatto il glicogeno con un fermento preesistente, si può ritenere che lo stimolo del plesso celiaco determina una maggiore produzione di fermento per cui la trasformazione del glicogeno è aumentata.

Il vago e il plesso celiaco hanno azione opposta sulla glicogenolisi.

Ringrazio il Dr Navarra G. per avermi gentilmente coadiuvato nel corso di queste ricerche.

From the Pharmacological Laboratory of the Johns Hopkins University (Baltimore)
Dir. : Prof. J. J. Abel.

On the Excretion of Hexamethylenamin(*) (Urotropin) in the Bile and Pancreatic juice

BY

S. J. CROWE

Several investigators have studied the excretion of substances in the bile. Mosler (1) in 1857 showed that both cane-sugar and glucose pass into the bile, the former more readily than the latter. He showed furthermore, that potassium iodide readily passes into the bile, but soon disappears; while quinine sulphate and benzoic acid do not appear in this secretion.

Meder (2) from his studies in 1892 concluded that practically all substances which are absorbed pass more or less readily into the bile; among them potassium iodide, potassium bromide, and mercuric chloride. On the other hand, according to his investigations, potassium nitrate, morphine, and quinine salts are not so excreted.

Vielliard (3) studied the excretion of a large number of drugs through the bile, and concluded that certain substances augment its antiseptic power, the best of these being sodium salicylate, salol, and mercuric chloride. He reported in his thesis in 1895 a number of cases of acute gall-bladder infections treated with sodium salicylate; he found that the drug lowered the temperature, relieved the pain, and not only stimulated the secretion of bile, but also rendered it antiseptic to a slight degree. Linnossier (4), however, in 1901 failed to support this observation, for he showed that dogs receiving two grams of sodium salicylate by mouth never had enough excreted in the bile to exercise any appreciable bactericidal action.

(*) This term is applied in the U. S. Pharmacopoeia to the condensation product (Hexamethylentetramin, $(CH_2)_6N_4$), obtained by the action of ammonia upon formaldehyde.

So far as we have been able to learn, the only substances which have been definitely shown to be excreted by the pancreatic juice are potassium iodide (5) and the sulphocyanates (5a).

The present investigation was undertaken by reason of a suggestion made in one of Dr. Barker's clinics in regard to chronic carriers of typhoid bacilli in the gall-bladder. The value of possessing a drug which would exercise its antiseptic action in biliary passages has long been recognized, and that it as been searched for is indicated by some of the above citations. Thus Herter (6) in 1905 pointed out the importance of finding an antiseptic for preventing and combating infections of the bile passages.

Hexamethylenamin was suggested by Dr A. S. Loevenhart as a substance which would deserve study for the following reasons :

(1) Because it is already in common use during typhoid fever in cases in which bacilluria occurs;

(2) Because its presence can be readily determined chemically.

This drug was first prepared in 1860 by Butlerow (7) and is made by the action of ammonia on formaldehyde according to the following equation :

$$4\ NH_3 + 6\ HCHO \rightleftarrows (CH_2)_6N_4 + 6\ H_2O.$$

Hexamethylenamin is readily hydrolized on boiling with dilute acids, yielding formaldehyde and ammonia. Even in neutral aqueous solutions it undergoes this decomposition to a certain extent when heated above 50°C., and for this reason we have indicated in the above equation that the reaction is a reversible one. The equilibrium point certainly varies with the temperature and the reaction of the solution, and will probably be found to vary also in different organic mixtures and body fluids.

Hexamethylenamin was introduced into therapeutics in 1894 by Nicolaier (8) under the name of urotropin. It is rapidly excreted through the kidneys and has come into general use in infections of the genito-urinary tract. Richardson (9) in 1899 showed this drug to be an efficient urinary antiseptic in typhoid fever, and recommended that it be given to all typhoid patients, 2.0 grams daily for 10 days, beginning with the third or fourth week of the disease. Churchman (10) made a bacteriological study of the urine before and after giving urotropin, helmitol, and methylene blue, and concluted that, of these drugs, urotropin is the most efficient. He found that there are certain organisms, however, which are very resistant to its action in the urine. Staphylococcus aureus proved to be the most resistant; while B. typhosus and streptococcus pyogenes disappear under its influence in most cases.

In addition to its value as a genito-urinary antiseptic, our experimental findings indicate that hexamethylenamin will probably be of efficiency in the following conditions :

(1) Acute infections of the gall-bladder;

(2) Convalescence from typhoid fever, where the advantage would be two-fold : (a) as a prophylactic measure against the subsequent formation of gall-stones; and more important (b) by sterilizing the gall-bladder and thus preventing the patient from becoming a chronic bacillus carrier (11), a menace to his community.

(3) Before gall-blader operations, as a prophylactic measure.

The methods employed in our work were as follows : The excretion of hexamethylenamin in the bile and pancreatic juice of dogs was determined in the following manner. After exposure of the duodenum, an opening was made about 3 cm. below the pylorus. This incision exposes the orifices of the pancreatic and common bile ducts, which in the case of dogs open separately. After the intravenous injection of secretin, the bile and pancreatic juice were collected by means of small catheters inserted into the ducts.

A slight modification of Hehner's test was used to determine the presence of hexamethylenamin. This test was made as follows: 4 to 6 drops of milk are added to a few cc. of the material to be tested, and this mixture is stratified with an equal volume of the reagent, which is composed of 100 cc. of 90 % sulphuric acid and 1 drop of 3 % ferric chloride solution. The sulphuric acid decomposes the hexamethylenamin into formaldehyde and ammonia, and a deep amethyst color develops at the juncture of the layers. If formaldehyde (hexamethylenamin) is present in too great a concentration, however, no color develops. The deep color of the bile necessarily interferes with tinctorial tests. A portion of the bile is therefore diluted with water, acidified with sulphuric acid and distilled. The formaldehyde passes over in the distillate to which the test can be readily applied.

In the case of pancreatic juice, or any other colorless solution, the test can be applied directly.

Casein can be substituted for milk in this reaction, in which case the aqueous layer and the sulphuric acid can be mixed. The heat which develops serves to accelerate the reaction, and the amethyst color is diffused throughout the mixture.

The experiments on dogs all showed that hexemethylenamin is excreted in the bile and pancreatic juice. In one case it was found to be present in the bile contained in the gall bladder 24 hours after giving 1.0 gram of hexamethylenamin by mouth, and it could also be demonstrated in the pancreatic juice obtained under the action of secretin. The

pancreatic juice collected from an animal that had received 1 grm. of hexamethylenamin by mouth and 3 grms. intravenously, was roughly estimated by colorimetric comparison to contain a quantity of the drug equivalent to a 1 : 10,000 solution of formaldehyde. In making this estimate, the color given by the pancreatic juice was compared with that given by a known solution of formaldehyde.

In order to determine whether any of the hexamethylenamin present was excreted directly through the wall of the gall-bladder, we exposed and ligated the cystic duct. Within the next two hours, 3.0 grams of hexamethylenamin were injected into the femoral vein, and the bile escaping through the common duct was collected by means of a catheter. At the end of this time the gall-bladder was removed, and the bile contained in it, as well as that discharged from the common duct, was distilled and tested in the usual way. Hexamethylenamin was found to be present in considerable quantities in both specimens and apparently the bile from the gall-bladder contained more than that which had been discharged through the common duct. This experiment indicated that hexamethylenamin is excreted directly by the gall-bladder, as well as by the hepatic cells. The milk and saliva of these dogs also gave the test. The excretion of hexamethylenamin in the milk of human beings has been observed by Bucura (12).

As shown by the following experiment, hexamethylenamin is rapidly absorbed and remains in the circulating blood for some hours. A rabbit was given 0.5 gram. of hexamethylenamin by mouth and 15 minutes later about 1 cc. of blood removed from an ear vein gave a decisive test. As with the bile, the test cannot be applied directly to the blood. The blood is diluted with water, acidified with sulphuric acid, distilled, and the distillate tested for formaldehyde. A faint trace was still present in the blood removed 24 hours after giving the drug.

The results of these experiments may be briefly stated as follows:

1. Hexamethylenamin when administered by mouth is rapidly absorbed and remains in the circulating blood for 24 hours. Apparently the maximum concentration in the blood is reached in 5 to 8 hours after giving the drug.

2. It is excreted in the bile, pancreatic juice, and directly through the wall of the gall-bladder in dogs.

3. It was found to be present in the saliva and milk of dogs after the intravenous administration of 1.0 gram.

In view of the experimental findings in animals, it was determined to make a bacteriological and chemical study of the bile obtained from patients with biliary fistula, before and after giving hexamethylenamin.

The following are the results obtained from the few cases that we have so far been able to follow :

Case I. — *In Dr. Kelly's service, Johns Hopkins Hospital.*

Mrs. B., aged 45, was admitted for some pelvic trouble. Buring the routine exploration at the time of the operation, the gall-bladder was discovered to be distended with gall stones. A second incision was made and 45 small gall stones, together with a large amount of sandy, mucoid material were removed, and a biliary fistula made. No cultures were obtained from the gall-bladder at the time of operation, but ten days later, plates inoculated with the material aspirated from the sinus gave the following results :

TABLE I.

Cultures made from the material aspirated from the sinus before giving hexamethylenamin.

	Inoculated with.	Estimated No of colonies after 24 hrs.	Organisms present.
Plate I . .	1 loop bile	1200 •	B. typhosus.
Plate II . .	3 » »	4000	B. pyocyaneus
Plate III .	5 » »	8000	and other organisms not determined.

Immediately after making these cultures, the patient received her first dose of hexamethylenamin. Within the next 24 hours there was administered to her 5 doses of 1,0 gram each, or a total of 5,0 gram. Four hours after the last dose, a second portion of the material was aspirated from the sinus and plates were inoculated as before.

TABLE II.

24 hours after Table I. The patient had received 5.0 grams of hexamethylenamin, last dose 4 hours previous to culture.

	Inoculated with.	After 24 hrs. incubation.	
	1 loop bile	No growth.	Plates remained sterile after 4 days incuba tion.
	3 » »	» »	
	5 » »	» »	

Some of the material obtained from the sinus was diluted with water, acidified and distilled as above described. The distillate gave

a positive test, showing that either hexamethylenamin or its decomposition product, formaldehyde, was present in the bile in considerable quantity.

Especial interest attaches to this case because of :

1st, the finding of gall stones;

2nd, the isolation of the typhoid bacillus, in the absence of any history of typhoid fever;

3rd, the rapid disappearance of the typhoid bacillus, together with the other organisms present, after the administration of 5,0 grams of hexamethylenamin by mouth.

Case II. — *In Dr. Finney's service at the Union Protestant Infirmary.*

The patient was 52 years of age, and was suffering from intermittent attacks of jaundice of several years duration. No gall stones were found at the operation, but a biliary fistula was made in order to relieve the jaundice. A portion of the bile was aspirated from the sinus on the tenth day after operation, and plates were inoculated as in the above cases.

TABLE III.

Before giving hexamethylenamin.

	Inoculated with.	Estimated No of colonies after 24 hours.	Organisms.
Plate I . .	1 loop bile	6000	B. coli
Plate II . .	3 » »	12000	Large cocci
Plate III .	5 » »	20000	Probably air organisms

This patient was also given 5.0 grams of hexamethylenamin within the next 24 hours, at the end of which time cultures were again made from the bile discharging through the sinus.

TABLE V.

24 hours after Table I.

	Inoculated with.	Estimated No of colonies after 24 hours.	Organisms.
Plate I . . .	1 loop bile	40	B. coli only was found to be present.
Plate II . . .	3 » »	75	
Plate III . .	5 » »	90	
Plate IV. . .	1 c.c.	500	

The effect on the number of organisms here is quite interesting when compared with Case I. The bacillus typhosus present in the first case rapidly disappeared under the influence of 5 grams of hexamethylenamin, while in this case a few colonies of B. coli persisted. The other organisms present rapidly disappeared. No further observations were made on this case.

Case III. — *In Dr. Halsted's service at the Johns Hopkins Hospital.*

The patient was 48 years of age, and admitted for severe attacks of abdominal pain, associated with jaundice. A single gall stone was found in the gall-bladder and a biliary fistula was made. No cultures were obtained from the gall-bladder at the operation, but a few hours later plates were inoculated with some of the material discharging through the tube. Several varieties of organisms were found to be present, and B. typhosus and B. coli communis were isolated and identified. The bile discharging through the tube was of a dirty brown color and contained a considerable amount of mucus.

The effect of gradually increasing doses of hexamethylenamin was determined by incoulating plates with the bile discharging through the drainage tube and noting the variation in the actual number of colonies from day to day.

The results of these observations are tabuled below.

TABLE V.

Date.	Dose of hexamethylenamin for 24 hrs. in grams.	Plate.	Amount of bile inoculated with.	Estimated No of colonies present.	Remarks.
Dec. 4	Before giving 1st dose	I	1 loop	150,000	Organisms present B. coli, B. typhosus and others not determined.
" 5	0.66	II	1 "	150,000	Discharging bile of dirty brown color. Foul odor.
" 6	1.33	III	1 "	100,000	
" 7	2.33	IV	1 "	75,000	Bile still of dirty brown color.
" 8	3.00	V	1 "	60,000	Color of bile is improved.
" 9	4.00	VI	1 "	20,000	
" 10	4.00	VII	1 "	12,000	Drain removed. Wound healthy and clean.
" 11	5.00	VIII	1 "	300	Bile has become perfectly clear in past 24 hrs.
" 12	5.00	IX	1 "	8	B. coli alone present. Wound healing rapidly.
" 13	5.00	X	1 cc.	Sterile	
" 14	5.00	XI	1 cc.	"	
" 15	5.00	XII	1 cc.	"	Wound practically healed.

The fistula rapidly closed and the patient left the Hospital a few days later.

In this case also specimens of the bile were distilled and tested chemically, after each increase in the dose. Rough estimation made by comparing the color given by the distillate on different days seemed to indicate that the quantity of hexamethylenamin excreted in the bile varies directly as the dose.

The relationship between the amount of hexamethylenamin given in 24 hours and the rapidity with which the organisms disappear is quite strikingly shown in Cases I and III. In the first case the organisms very rapidly disappeared after 5 grams, while in Case III there was a less marked effect on the number of organisms present after 2.33, 3.0 and 4.0 grams, the effect increasing with the dose. These findings would seem to indicate that 5.0 grams a day must be given in order to quickly obtain the desired effect in the gall-bladder. Smaller doses, however, continued over a longer period of time may prove equally efficient.

Case IV. — *Dr. Halsted's service at the Johns Hopkins Hospital.*

The patient was 32 years of age, and was admitted with sharp, intermittent crampy pains throughout the entire abdomen, associated with nausea and vomiting. It was thought to be an attack of acute appendicitis, but on opening the abdomen, the fundes of a much distended gall-bladder presented in the wound. After aspirating several ounces of pus, the gall-bladder was opened and drained.

At the time of operation, a pure culture of B. typhosus was obtained from the gall-bladder. The patient is quite sure that she never had typhoid fever.

This case was not brought to my notice until 10 days after the operation, during which time she had been receiving a prophylactic dose of 1.0 gram of hexamethylenamin a day, because of the necessity of frequent catheterization. At the end of this time cultures from the sinus proved to be absolutely sterile. The dose was then increased to 2.0 grams a day. The material aspirated from the sinus showed the presence of hexamethylenamin and a subsequent culture failed to reveal the typhoid bacillus. The patient was discharged on the 26 th day after operation in excellent condition.

Observations have been made on two other cases which are interesting in that they appearance of the drug in the cerebro-spinal and synovial fluids.

The first case was that of a boy 13 years of age, who had symptoms suggesting a cerebellar tumor. At the exploratory operation, nothing definite was found. A decompressive operation was done and the wound closed. A plaster dressing was applied and on removing it 12 days later, a cerebro-spinal fistula was found in the upper part of the incision. At this time his temperature ranged between 100 and 103; the discharging

fluid contained a few pus cells, bacteria, shreds of necrotic tissue and it was feared he would subcumb to meningitis. Acting on Dr. Cushing's suggestion, that hexamethylenamin might possibly be excreted by this route also, the boy was given a 0.66 gram dose of the drug and five or six hours later some the discharging fluid was collected and tested. A distinct test was obtained and the dose was increased to 2.0 grams a day. Three weeks later, under this treatment, the fistula had closed entirely and the temperature was practically normal.

The second case was one of acute gonorrhoeal arthritis. The knee joint was tremendously swollen, very hot and tender. In order to determine whether the drug appeared in the synovial cavity, the patient was given a 1.0 gram dose of hexamethylenamin at 9 A. M. Nine hours later the joint was aspirated and about 100 cc. of pus withdrawn. The chemical test showed the presence of hexamethylenamin in considerable amount. Cultures taken at this time proved the infecting organism to be the gonococcus. The dose was immediately increased to 5.33 grams a day and four days later, cultures from the joints showed a marked decrease in the number of organisms present. A third aspiration, ten days after admission, showed that the organism had completely disappeared. During this period, the clinical condition of the joint improved markedly. The effusion into the joint and the acute tenderness rapidly disappeared, but there still remained some periarticular infiltration and some limitation of motion. After receiving 5.33 grams a day for 24 days the patient developed painful and frequent micturition which immediately disappeared, however, on withholding the drug. No albumin or red blood corpuscles were found in the urine and only a slight increase in epithelial cells was noted.

Several cases of hematuria following the administration of hexamethylenamin have been reported (12). In this series of cases, however, no such sympton was noted, but subsequently several cases have developed painful micturition. This symptom rapidly disappeared on withholding the drug. In no case was a gastro-intestinal disturbance set up, and even after 5.33 grams a day for 15 days, the appetite remained good, and the bowels regular. In the experimental work on dogs, the kymographic record showed no disturbance of the blood pressure, pulse or respiration after the intravenous injection of 2.0 to 3.0 grams.

There has been much discussion as to whether hexamethylenamin is excreted as such, or as its decomposition products, formaldehyde and ammonia. The question is of considerable importance, because formaldehyde is strongly antiseptic, while hexamethylenamin exercises a much weaker, although distinct antiseptic action.

Hexamethylenamin yields formaldehyde so readily on treating it

with various substances that it may be said to respond to all the formaldehyde tests with which we are acquainted. Its solutions however, give the test distinctly more slowly than formaldehyde itself. Hence it is impossible to apply formaldehyde tests in the presence of hexamethylenamin. On the other hand hexamethylenamin may be tested for, even in the presence of formaldehyde, by the well known reaction with bromine water, i. e. tetrabromhexamethylenamin appears as a precipitate, even in a dilution of 1 : 50,000 according to our determination. From this it will be seen that it is easy to demonstrate the presence of hexamethylenamin in a given excretion, but the bromine water test throws no light whatever on the presence of formaldehyde.

Our attempts to take advantage of the great difference in the volatility of these substances has likewise proved futile. Hence we can only state that in case we get the bromine test for hexamethylenamin, a part of the drug appears undecomposed and must leave entirely open the question as to whether a part of it appears as its decomposition product. (*)

We have already indicated that the formation of hexamethylenamin from formaldehyde and ammonia is a reversible process, the equilibrium point of which varies with the temperature and the reaction of the solution. It also seems quite logical to suppose that the equilibrium may vary with the organic constituents of the solution. Until quantitative methods are developed for the determination of formaldehyde and hexamethylenamin in the presence of one another, we cannot hope to obtain any satisfactory solution for this phase of the problem. Our bacteriological results would, however, rather lead us to surmise that at least a small part of the drug appears in the bile as formaldehyde.

In this report we have contented ourselves with the chemical proof of the occurence of hexamethylenamin or formaldehyde in a given excretion; with the study of the therapeutic effects of the drug on those clinical conditions which the chemical work indicated might be succesfully treated; and with the result of the treatment, as shown by bacteriological examination. Before the therapeutic value of hexamethylenamin in infections of the gall-bladder can be definitely established, a larger number of cases will have to be observed.

The principal results of the work may be briefly summarized as follows :

1. After its administration by mouth, hexamethylenamin appears in

---

(*) KOHLER : Monatshfte f. prakt. Dermatologie, 1894, XXXVIII, N° 9. States that he has been able to demonstrate free formaldehyde in the blood of dogs treated with hexamethylenamin. We hope to test his method and present the results in a subsequent communication.

the bile and pancreatic juice of dogs. It finds its way into the bile both through the liver and through the wall of the gall-bladder.

2. It has been demonstrated in the bile, cerebro-spinal fluid, synovial fluid, saliva, pleural effusion, and blood of man.

3. When given in sufficiently large doses (5.0 grams per day) it appears in the bile in quantities which suffice to exercise a decided bactericidal action.

I am pleased to acknowledge my indebtedness to Dr Ford for assistance in the bacteriological part of the work; for the clinical material I am under obligations to Doctors Halsted and Kelly, Finney, Cushing and Miller. To Dr Loevenhart I am especially indebted, since the work was carried out entirely under his directions, and by his unfailing interest and actual help in carrying out the experiments the work was made possible.

Bibliography.

1. Mosler : Inaug. Diss., Giessen, 1857.
2. Meder : Inaug. Diss., Würzburg, 1892.
3. Vielliard : *Étude comparative du pouvoir antiseptique de la bile à l'état physiologique et sous l'influence des substances médicamenteuses.* Thèse de Lyon, 1895.
4. Linnossier : Compt. rend. Soc. biol., 1901, LIII, 265.
5. Benedicenti : Cited in Maly. Jahrb. d. th. Chem., 1904, XXXIV, 485.
5a. De Souza : Journ. of Physiol., XXXV, 332, 1907.
6. Herter : Journ. Exper. Med., 1905, VII, 102.
7. Butlerow : Liebig's Ann. d. Chem. u. Pharm. 1860, 115-322.
8. Nicolaier : Deutsche med. Wochenschr., 1895, No 34.
9. Richardson : Journ. Exper. Med., 1899, IV, 19.
10. Churchman : Johns Hopkins Hosp. Rep., 1906, XIII, 189.
11. Recent work seems to indicate that the chronic bacillus carrier harboring the organism in his gall-bladder, is less of a factor in the spread of typhoid fever than was formerly supposed, but undoubted cases of the spread of typhoid in this way have been reported.
Report on the Origin and Prevalence of Typhoid Fever in the District of Columbia. Hygienic Lab. Bull., No 36.
Metchnikoff : The New Hygiene, 1906.
Kutscher : Kolle u. Wassermann's Handbd. f. path. Mikroorganismen. Erstes ergänzungs Band, 1906, 88.
12. Bucura : Ztschr. f. exper. Path. u. Ther., 1907, IV, 398.
13. Coleman : Med. News, N. Y., 1903, LXXIII, 393.
von Karwowsky : Monatshefte f. prak. Derm., 1906, XLII, 8.

Laboratoire de Physiologie et laboratoire des cliniques
de la Faculté de Médecine de Montpellier.

Étude physiologique et thérapeutique de deux purgatifs synthétiques, la phénolphtaléine et le « sodophtalyl » (« disodoquinone phénolphtaléinique » soluble) (1)

PAR

M. C. FLEIG.

Introduction.

La phtaléine du phénol, utilisée depuis longue date dans les laboratoires de chimie, est d'une acquisition toute nouvelle en thérapeutique. C'est un type extrêmement intéressant de *purgatif synthétique*, dont nous devons la connaissance au Dr Zoltán von Vámossy (2), de Budapest, qui fut amené à l'étudier à la suite des circonstances suivantes.

En 1900, le gouvernement hongrois, voulant exercer un contrôle sur l'origine de certains vins, essaya, sur le conseil du Professeur L. Liebermann, de les additionner d'une petite quantité de phénolphtaléine (1 gr. par hectolitre), substance qui, on le sait, donne une solution incolore en milieu acide et une coloration violette ou rouge fuchsine en milieu alcalin; les vins ainsi traités pouvaient donc facilement se reconnaître par

(1) Ce mémoire, augmenté de l'étude chimique de la disodoquinone phénolphtaléinique, a été déposé au bureau de l'*Académie des Sciences* au mois de décembre 1907. Présenté à la *Faculté de médecine de Montpellier* le 30 mai 1907, il n'avait été complété depuis que par quelques additions bibliographiques. — Communications préliminaires in C. R. Acad. Sces et Bull. de la Soc. de Thérap., février 1908.

(2) Zoltan von Vamossy : *Ist Phenolphtalein ein unschädliches Mittel zum kenntlich machen von Tresterweinen?* Chemiker-Zeitung, 1900, XXIV, No 64. — *Egy új hashajtószerről (a purgórol).* Az orvosi hetilap tudományos Közleményei-Különlenyomat. XLVI, Envfolyam 1902, 9-10. sz. (Budapest). — *Ueber ein neues Abführmittel (Purgen).* Therapie der Gegenwart. Mai 1902. — *Ist « Purgen » ein schädlicher Abführmittel?* Erwiderung auf den Vortrag des Herrn geheimen Medizinalrates Dr Oskar Schwarz (d. Wochenschr., 1903, No 1). Münchener medizinischer Wochenschrift, 1903, No 26.

simple alcalinisation. (Dans les vins rouges, il suffisait de précipiter d'abord la matière colorante naturelle par le sous-acétate de plomb pour retrouver la phtaléine dans le filtratum.) Mais l'action physiologique de la phtaléine n'ayant pas été étudiée, LIEBERMANN demanda à ZOLTÁN VON VÁMOSSY de rechercher si cette substance n'avait pas d'action nocive, et c'est ainsi que VÁMOSSY, arrivant à l'expérimenter sur lui-même, lui découvrit une action purgative intense. Ce n'est pas le public, comme le rapportent plusieurs auteurs, qui, à la suite de l'usage des vins traités, s'aperçut de cet effet spécial; ces vins en effet n'ont jamais été mis en circulation et même, aux doses où la phtaléine s'y trouvait, n'auraient pas pu avoir d'action purgative. C'est donc bien à DE VÁMOSSY que revient l'honneur de la découverte. Qu'il nous soit permis d'adresser ici à l'auteur l'expression de notre vive gratitude pour l'obligeance et l'amabilité avec lesquelles il nous a envoyé ses travaux.

Depuis les communications de DE VÁMOSSY, dont la première remonte à 1900, de nombreux médecins, en particulier en Autriche-Hongrie et en Allemagne, ont mis à profit l'action de la phtaléine. Celle-ci est, à l'heure actuelle, très utilisée même en France, mais peu d'auteurs cependant ont essayé d'en faire une étude méthodique et en particulier d'élucider en détail le mécanisme suivant lequel elle agit.

Aux travaux de DE VÁMOSSY ont fait suite ceux de J. WENHARDT (1), de UNTERBERG (2) (Budapest), de TUNNICLIFFE (3) (Londres) en 1902, de R. WERNICKE (4) (Buenos-Ayres) en 1904, etc.; mais la plupart sont uniquement cliniques et laissent sans solution de nombreux points importants de la pharmacodynamie de la phénolphtaléine.

Les recherches que j'ai entreprises sont destinées à préciser le mode d'action de cette substance, après en avoir étudié l'absorption, les transformations dans l'organisme, l'élimination et certains effets secondaires tels que les effets sur la circulation, la sécrétion urinaire et la nutrition elle-même.

Au cours de ces études, j'ai été amené à examiner corrélativement l'action physiologique et thérapeutique d'un dérivé soluble de la phtaléine qui n'avait jusqu'ici jamais été isolé. Je l'ai désigné sous les termes

---

(1) JOHAN WENHARDT : *Ueber Purgen, ein neues Abführmittel.* Die Heilkunde, 6e Jahrg., Heft 5, Mai 1902.

(2) UNTERBERG : *Therapie der Gegenwart,* mai 1902.

(3) F. W. TUNNICLIFFE : *Synthetic purgatives : the purgative action of dihydroxyphtalo-phenone (phenolphtalein, purgen).* The british medical Journal, 18 octobre 1902, n° 2181, 1224-1227.

(4) ROBERT WERNICKE : *Purgen, in Ungarn unter dem Namen Purgo bekannt. neues synthetisches Purgativmittel (deutsche Uebersetzung).* Revista del Centro estudiantes de medicina (Buenos-Ayres), juin 1904, n° 34.

chimiques de *disodoquinone phénolphtaléinique* ou *aci-phénolphtaléine disodique*, en proposant, pour simplifier le langage habituel, la dénomination plus simple de *sodophtalyl*. Après l'avoir préparé à l'état solide et en avoir étudié en détail les diverses propriétés physiques et chimiques, j'ai constaté qu'il possédait un effet purgatif plus efficace encore que celui de la phtaléine et qu'il présentait sur celle-ci divers avantages. Le plan que j'ai suivi dans l'examen de ses propriétés physiologiques, est le même que celui que j'ai employé pour la phtaléine, aussi, pour la clarté de l'exposition, les décrirai-je parallèlement à celles de cette substance.

Il ne sera point question dans le présent mémoire de l'étude chimique du sodophtalyl, mais uniquement de ce qui l'intéresse au point de vue physiologique et thérapeutique. Quelques notions récentes de chimie pharmacodynamique sur les noyaux organiques élémentaires doués d'action purgative seront seulement exposées au début.

Les divisions de ce travail sont les suivantes :

CHAPITRE I.

Aperçu de chimie pharmacodynamique sur les groupements eccoproticophores.

La phénolphtaléine n'est pas le seul purgatif synthétique que l'on connaisse. On sait que la plupart des purgatifs végétaux doivent leur action à des substances de la nature des *glucosides* et que ces glucosides spéciaux peuvent donner par décomposition des *dérivés de l'anthraquinone*, corps doués eux-mêmes de propriétés purgatives. La rhubarbe, le séné, le cascara sagrada, l'aloès, etc. sont dans ce cas. L'anthraquinone s'y trouve ordinairement sous forme de *dérivé méthoxylé* (TSCHIRCH, NASSE, ESSLEMONT, HANS MEYER) (1).

---

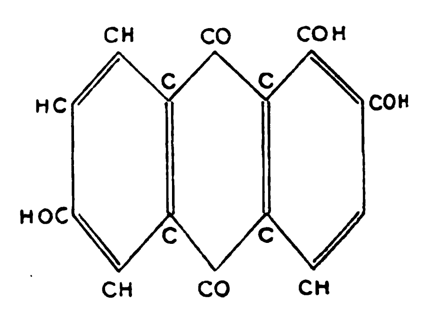
(1) *Emodine* (dans l'écorce de bourdaine) = trioxyméthylanthraquinone. — *Acide chrysophanique* (rhubarbe) = dioxyméthylanthraquinone. — *Franguline* ou *rham-*

L'acide chrysophanique, qui est le principe actif de la rhubarbe, a servi de modèle à VIETH (1) pour obtenir le premier purgatif, l'*anthrapurpurine* ou *purgatine* (2), dont les formules suivantes montrent les relations chimiques :

Anthracène.

Anthraquinone.

Acide chrysophanique (Rhubarbe).



Anthrapurpurine
(purgatine = diacétate d'anthrapurpurine).

noxanthine (bourdaine) = émodine et rhamnose. — *Chrysarobine* = acide chrysophanique. — *Barbaloïne* (aloës des Barbades) = émodine par oxydation.

TSCHIRSCH : *Versuch einer Theorie d. organ. Abführmittel, welche oxymethylanthrachinose enthalten*. Schweizer Wochenschr. f. Chemie u. Pharmacie, 1898, n° 23.

TSCHIRSCH : *Die oxymethylanthrachinose und ihre Bedeutung für einige organischen Abfürhmittel*. Ber. deut. pharmaceut. Gesellsch. VIII, 1898, fasc. 5.

NASSE : *Beiträge zur Physiol. d. Darmbewegung*. Leipzig, Engelmann, 1866.

ESSLEMONT : *Beiträge zur pharmakol. Wirkung der Abführmittel der Aloederivatgruppe*. Schmiedeberg's Archiv. 43, 274, 1900.

HANS MEYER : *Ueber Aloe*. Schmiedeberg's Archiv. 27, 186, 1891.

(1) VIETH : *Ueber ein synthet. gewonnenes Abführmittel*. Münchner med. Wochenschrift 1901, n° 30, p. 1381.

(2) L'anthrapurpurine agit à la dose de 1 à 2 grammes. Elle s'accompagne souvent de coliques.

On pensa alors que les diverses oxyméthylanthraquinones et l'anthrapurpurine de VIETH pouvaient être regardées comme les représentants d'un groupe unique, celui des *purgatifs anthracéniques* (1), et dont le noyau d'anthraquinone apparut comme étant le substratum chimique de leur action purgative, comme étant un noyau *eccoproticophore*.

Comme la phtaléine purgeait, et qu'on sait d'autre part qu'elle possède la propriété de se transformer sous l'influence de certaines réactions en dérivés anthracéniques (2), on voulut trouver dans ce rapprochement une explication chimique de son action pharmacodynamique (3).

Mais il revient à BRISSEMORET (4) le mérite d'avoir démontré que les purgatifs anthracéniques ne sont, en chimie pharmacodynamique, que des éléments individuels de la famille des corps à fonction *cétone quinonique*, et que c'est à ce groupement fonctionnel cétone quinonique qu'est liée la propriété eccoproticophore, ce groupement pouvant être fixé indifféremment sur un noyau de benzine, de naphtaline ou d'anthracène : c'est ainsi qu'il montra que la benzoquinone

CO
HC CH
HC CH
CO

(1) Voir R. MAGNUS : *Pharmakologie der Magen- und Darmbewegungen.* Ergebnisse der Physiologie. II Abteilung (Biophysik), 1903. *(Gruppe der Anthracen-Derivate,* p. 663-665). Bergmann, Wiesbaden.

(2) L'hydrogène naissant réduit la phtaléine (*a*) en *phtaline* (*b*) et cette dernière, déshydratée par SO^4H^2. donne de la *phtalidine* (*c*), qui est un dérivé anthracénique :

$C^6H^4 < C(C^6H^4.OH)(C^6H^4.OH) > O$, C=O (*a*) → $C^6H^4 < CH < C^6H^4.OH, C^6H^4.OH$; CO^2H (*b*) → C^6H^4 < C(C^6H^4.OH), C.OH > C^6H^3.OH (*c*)

(3) Les auteurs s'accordent à ramener l'action purgative des *dérivés anthracéniques* à une *excitation du péristaltisme intestinal* (Thiry, Brieger, Flemming, etc.). Nous verrons que pour la *phénolphtaléine et le sodophtalyl* au contraire il s'agit nettement d'un *mécanisme excito-sécrétoire.*

(4) BRISSEMORET : *Contribution à l'étude des purgatifs organiques.* Paris, janv. 1903. — *Le groupement fonctionnel eccoproticophore de quelques purgatifs organiques,* C. R. Soc. Biol., 10 janvier 1903. — *Sur les fonctions chimiques entéréthistiques.* Ibid., 31 mars 1906. — *Sur les fonctions chimiques purgatives.* Ibid., 30 nov. 1906. — *Sur les imines quinoniques.* Ibid., 20 avril 1907.

et la naphtaquinone

CH CO
C
HC CH
HC CH
C
CH CO

étaient eccoproticophores tout comme l'anthraquinone, ainsi que beaucoup de dérivés de ces diverses quinones (l'*acide embélianique* et le *pérezon* qui renferment un noyau de benzoquinone, la ***naphtazarine*** qui est une dioxynaphtoquinone).

Entre autres faits intéressants, il fut amené à constater d'autre part que l'*aurine*

$$O = C^6H^4 = C <^{C^6H^4 - OH}_{C^6H^4 - OH}$$

et son homologue supérieur l'*acide rosolique*

$$O = C^6H^4 = C <^{C^6H^4 . OH}_{C^6H^3 <^{CH^3}_{OH,}}$$

possédant tous deux une constitution *quinonoïdique*, purgeaient en excitant la sécrétion des glandes intestinales.

La fonction *cétone*, soit à l'état de *quinone proprement dite* (juglon, naphtazarine), soit à l'état de *quinonoïde* (aurine) est donc bien un symbole chimique nettement en relation avec l'action pharmacodynamique eccoproticophore.

Ce n'est d'ailleurs pas le seul, et l'analogie frappante des propriétés chimiques (oxydantes réductrices (1)) des cétones quinoniques et des imines quinoniques a conduit Brissemoret à reconnaître aussi une valeur eccoproticophore au groupement fonctionnel imine quinonique (2).

---

(1) Les imines quinoniques se réduisent facilement et donnent un leuco-dérivé instable qui, au contact de l'oxygène et en milieu alcalin, se réoxyde rapidement et régénère l'imine primitive :

$$O = C^6H^4 = Az - C^6H^4 - Az <^{CH^3}_{CH^3} + H^2 = HO - C^6H^4 - AzH - C^6H^4 Az <^{CH^3}_{CH^3}$$

$$HO - C^6H^4 - AzH - C^6H^4 Az <^{CH^3}_{CH^3} + O = H^2O + O = C^6H^4 = Az - C^6H^4 - Az <^{CH^3}_{CH^3}$$

(2) A part la fonction cétone (quinonique ou quinonoïdique) et la fonction imine quinonique, Brissemoret décrit encore accessoirement comme « *fonctions chimiques purgatives* » : 1° la *fonction alcool*, à condition qu'elle soit accumulée plusieurs fois dans la même molécule (glycérine, mannite); 2° la *fonction acide* dans la série acyclique, mais surtout lorsqu'elle est associée à la fonction alcool (acide ricinoléique, acide jalapinolique).

La résorufine, par exemple, qui possède une fonction imine quinonique,

$$O = C^6H^3 \langle {}^{Az}_{O} \rangle C^6H^3 - OH,$$

purge aussi en excitant les sécrétions intestinales; il en est de même encore du chlorure de diméthylparaammoniumphène β oxynaphtoxazine, qui est une imine quinonique,

$$\begin{matrix} CH^3 \\ CH^3 \\ Cl \end{matrix} > Az = C^6H^3 = Az - C^{10}H^5 - OH. \quad (C^6H^3 \text{ et } C^{10}H^5 \text{ reliés par } O)$$

Au cours de l'étude de ces divers faits, BRISSEMORET en vint alors à rapprocher logiquement les effets purgatifs de ces substances de ceux obtenus, chez l'homme, avec la phtaléine, dont les sels, comme on peut le reconnaître en passant en revue les divers travaux faits sur leur constitution, paraissent bien avoir aussi une formule quinonoïdique bien mise en parallèle par FRIEDLANDER avec celle de l'aurine.

Rien de plus logique dès lors que de *faire rentrer la phénolphtaléine et le sodophtatyl dans le gronpe des purgatifs cétones-quinonoïdiques*, au même titre que les aurines.

CHAPITRE II.

Recherche d'une action toxique de la phénolphtaléine et du sodophtalyl chez l'animal et chez l'homme.

Il faut, pour mettre en évidence une action toxique de la *phénolphtaléine et du sodophtalyl*, avoir recours à des doses extrêmement élevées.

La phénolphtaléine chez l'animal. — ZOLTÁN DE VÁMOSSY a pu administrer à des animaux de fortes doses de phénolphtaléine en nature, soit par la voie intra-veineuse, soit par la voie gastrique sans produire de troubles graves. La phtaléine étant presque insoluble dans l'eau, il l'a injectée en solution alcoolique dans la veine marginale de l'oreille à des lapins du poids de 700 gr. à 900 gr.

Les doses étaient de 0,01 gr. à 0,03 gr. en solution dans 1 c.c. d'alcool. Dans deux cas seulement l'injection fut mortelle, probablement à la suite d'embolies provoquées par la précipitation de la phtaléine de sa solution alcoolique dans le sang. Afin d'éviter l'action possible de l'alcool, il a injecté aussi cette substance dans l'estomac en émulsion aqueuse avec de la gomme arabique aux doses de 1 à 2 grammes à des lapins de 950 à 980 gr. sans observer le moindre symptôme morbide. Un chien de 4 kilogr. put de même en recevoir 5 grammes sans rien manifester de spécial.

L'auteur a pu en outre faire ingérer à des lapins des doses quotidiennes de phtaléine pendant des périodes d'un à deux mois sans constater d'effet toxique qui lui soit imputable.

Le tableau qu'il donne est caractéristique à ce point de vue.

	Doses journalières.	Durée de l'exp.	Poids de l'animal — le 1er jour.	Poids de l'animal — le dernier jour.	Aug. de poids.	Poids un mois après cessation de l'exp.
Lapin 1. .	0,03 gr. ds 1 c.c. alcool	57 jours.	860 gr.	1490	630	1570
Lapin 2. .	0,10 gr. ds émulsion aq.	60 »	1060 »	1250	190	1370
Lapin 3. .	0,20 gr. ds émulsion aq.	38 »	1420 »	1780	360	1960

La phénolphtaléine chez l'homme. — Après s'être convaincu de l'innocuité de la phénolphtaléine chez l'animal, DE VÁMOSSY l'essaya sur lui-même et sur un de ses amis aux doses respectives de 1 gr. 5 et 1 gr. Le seul effet qu'ils constatèrent fut un effet purgatif extraordinairement intense, sans coliques ni ténésme.

L'auteur conclut que l'addition de phtaléine au vin dans les proportions indiquées par LIEBERMANN, de 1 gr. par hectolitre, ne peut avoir aucune action toxique ni même être une dose purgative, un litre de vin ne contenant ainsi qu'un centigramme de phtaléine. Il a pu avec ses collègues absorber sans inconvénieut pendant un mois des doses quotidiennes de 0,10 gr. : les premiers jours, les selles furent seulement très molles, puis régulières.

Il serait certainement très difficile d'obtenir chez l'homme l'empoisonnement par la phénolphtaléine : DE VÁMOSSY rapporte plusieurs cas où de tous jeunes enfants mal surveillés avalèrent jusqu'à 0,50 gr. sans présenter d'autre symptôme qu'une forte diarrhée. WENHARDT cite le cas d'un enfant de deux ans et demi qui prit ainsi en une fois 0,70 gr. de phtaléine sous forme de bonbons.

Ces résultats ne sont point étonnants si l'on ajoute que la phénolphtaléine, comme nous le verrons en détail, n'est que très difficilement absorbée et en minime quantité dans le tube digestif et qu'on la retrouve en grande partie dans les selles : l'alcalinisation de celles-ci donne la coloration caractéristique.

Expériences personnelles. — *Phénolphtaléine et sodophtalyl chez l'animal et chez l'homme.* — *Toxicité par diverses voies.* — *Administration prolongée.* — Les expériences de toxicité auxquelles je me suis livré confirment pleinement celles de ZOLTÁN DE VÁMOSSY. J'ai administré la phtaléine à des chiens, à des lapins et à des cobayes par les voies gastrique, sous-

cutanée ou intra-veineuse, soit en solution alcoolique à 2 ou 5 °/o, soit en solution alcaline, soit en nature en suspension dans un liquide aqueux (dans le cas de la voie stomacale). En donnant aux animaux soit des doses uniques, soit des doses répétées pendant un temps plus ou moins long, je n'ai pu mettre en évidence d'action toxique qu'avec des quantités de produit extrêmement élevées, tout à fait hors de proportions avec les limites des doses actives thérapeutiquement.

Des chiens de poids variant de 8 à 15 kilogrammes ont en une seule fois reçu par la voie gastrique de 10 à 25 grammes de phénolphtaléine en suspension dans de l'eau ou dans une solution de gomme, des lapins du poids de 2 à 3,500 kgr. ont reçu dans les mêmes conditions des doses de 2 à 8 grammes sans autre manifestation qu'une diarrhée plus ou moins accentuée, quoique très inconstante.

La même innocuité s'est montrée à la suite de l'administration aux mêmes animaux de doses quotidiennes de 0,25 gr. à 0,50 gr. pendant un mois.

De même l'injection sous-cutanée d'une solution alcoolique de phénolphtaléine est bien supportée par les animaux aux doses de 0,50 gr. à 1 gramme par kilogramme.

Quant à l'administration aux animaux de la phtaléine en solution alcaline, elle se confond avec l'étude de la toxicité de son chromosel.

La solution de sodophtalyl peut être injectée dans l'estomac, sous la peau ou dans les veines sans produire aucun trouble aux doses de 2 grammes par kilogramme pour la voie gastrique et de 0,50 gr. à 1 gramme pour la voie intra-veineuse. Les solutions employées dans le cas d'injection intra-veineuse étaient de 1 à 3 °/o, faites dans l'eau salée de 5 à 7 °/oo.

Si l'on injecte rapidement des doses massives dans le torrent circulatoire, les animaux présentent d'abord une certaine agitation, puis un ralentissement marqué de la respiration et du cœur et finalement une forte dyspnée, des contractions cardiaques extrêmement ralenties, quelques convulsions et meurent. A l'autopsie, pas de lésions spécifiques, congestion banale des organes.

De même que pour la phénolphtaléine en nature, on peut donner aux animaux ou à l'homme des doses répétées de sodophtalyl sans provoquer la moindre intoxication.

Chez l'homme, l'ingestion de doses allant jusqu'à 1 gramme n'a eu d'autre effet que de provoquer une forte diarrhée. L'injection sous-cutanée de 0,50 gr. a été parfaitement bien supportée ; la diarrhée qu'elle provoque peut s'obtenir déjà, comme nous le verrons, avec des doses bien inférieures.

Malgré sa solubilité, ce sel et donc très peu toxique. Cette faible

toxicité est en rapport avec son élimination facile et rapide. Nous verrons plus loin en effet qu'à la suite de son injection dans les veines, on retrouve la phtaléine au bout de quelques minutes dans l'urine.

On ne comprend guère dès lors que certains auteurs aient pu s'élever contre l'utilisation clinique de la phénolphtaléine. Les objections qui ont été faites à l'emploi de cette substance par SCHWARTZ (1) sont sans fondement aucun, ainsi que l'a montré DE VÁMOSSY dans une réponse à un article de l'auteur.

Si la phtaléine et son sel soluble, malgré leurs noyaux phénoliques, ne sont pas toxiques, c'est qu'ils ne sont pas décomposés dans l'organisme et que ces noyaux ne circulent pas à l'état libre.

Nous nous occuperons de la démonstration de ce fait dans le chapitre qui suit.

CHAPITRE III.

Absorption, transformations dans l'organisme et élimination de la phénolphtaléine et du sodophtalyl.

Résumé des recherches des divers auteurs sur l'absorption et l'élimination de la phénolphtaléine — Élimination par les fèces et par l'urine. — La phénolphtaléine est, nous l'avons dit, extrêmement peu soluble dans l'eau; d'autre part son sel soluble nécessite, pour prendre naissance, la présence d'alcalis libres ou tout au moins de carbonates neutres, les bicarbonates ne donnant aucune réaction de solubilisation avec la phtaléine. On comprend donc que, si une action spéciale n'intervient pas pour la solubiliser ou la décomposer dans le tube digestif, elle ne soit pas absorbée, puisque les réactions du contenu stomacal et du contenu du gros intestin sont acides et que le milieu de l'intestin grêle n'a qu'une alcalinité faible, due d'ailleurs surtout aux bicarbonates.

C'est effectivement ce qu'a constaté ZOLTÁN DE VÁMOSSY : il a vu que la plus grande partie de la phtaléine ingérée passait en nature dans les fèces; la proportion retrouvée par l'auteur chez l'animal est de 85,17 % de la quantité ingérée, chiffre plutôt faible si l'on songe à l'impossibilité d'éviter les pertes. D'après ce que nous venons de dire du mode de solubilisation de la phtaléine, on doit admettre que sa présence dans les selles représente bien le résultat du manque d'absorption et ne peut pas s'interpréter comme conséquence d'une excrétion de la substance primitivement absorbée.

Ce qui montre bien que la phénolphtaléine n'est absorbée par le

(1) OSKAR SCHWARZ : D. Wochenschrift, 1903, N° 1.

tube digestif que dans des limites extrêmement faibles, c'est l'impossibilité qu'on a le plus souvent à la déceler dans l'urine, soit en nature, soit sous forme d'un produit de décomposition. DE VÁMOSSY, qui a étudié cette question, donne cependant peu de détails à ce sujet dans ses publications. Il dit qu'à la suite de l'emploi de *doses de phtaléine extraordinairement élevées* une minime quantité seulement peut être absorbée et qu'une toute petite partie de la phtaléine peut passer dans l'urine sans avoir subi de modification : on la décèle alors par simple alcalinisation de l'urine, qui prend une teinte rose.

Sulfates neutres et sulfates conjugués dans l'urine des animaux soumis à la phtaléine. — D'autre part à la suite de déterminations de sulfates dans l'urine des chiens soumis à de fortes doses de phénolphtaléine, il conclut que chez ces animaux les sulfates neutres n'arrivent pas à disparaître de l'urine et que les rapports entre les sulfates neutres et les dérivés sulfo-conjugués ne s'abaissent indépendamment de la grandeur de la dose que de 3-5 à 1, 1-1,76; d'après lui, s'il y a une scission de la molécule de phénolphtaléine dans l'organisme, elle ne peut ainsi exister que dans de très faibles limites. (1)

Quelle que soit l'interprétation de l'auteur, on peut déduire de ses données que *sous l'influence de fortes doses de phénolphtaléine il y aurait augmentation des dérivés sulfo-conjugués de l'urine.*

UNTERBERG aurait réussi, dans la plupart des cas, à retrouver la phénolphtaléine dans l'urine par addition d'un alcali; d'après lui, la phtaléine apparaîtrait dans l'urine ordinairement déjà au moment des premières évacuations ou un peu avant et le maximum d'intensité de son élimination aurait lieu de 6 à 8 h. après l'ingestion.

TUNNICLIFFE a recherché si *chez l'homme* l'administration de phénolphtaléine amenait une augmentation des sulfates conjugués de l'urine. Les expériences ont porté sur lui-même et sur deux malades d'hôpital; le régime n'avait qu'une constance approximative. Dans ces conditions

(1) Les détails des recherches de l'auteur sur cette question des sulfates étant publiés dans un mémoire écrit en hongrois qu'il ne m'a pas été possible de me faire traduire jusqu'ici, je crois bon de rapporter textuellement tout ce qu'il en dit dans une communication en allemand : « Dasselbe wurde auch bestätigt durch Sulfatbestimmungen bei sich in Sulfatgleichgewicht befindenden Hunden. Der eine bekam täglich 5 gramm, später 10 gramm Phenolphtalein, der andere täglich 1 gramm; bei keinem gelang es aber, die normalen Sulfate zum Verschwinden zu bringen, und die Verhältnisse zwischen A und B-Sulfaten sanken unabhängig von der grosse der Dosis von 3-5 nur auf 1,1-1,76 herunter. Wenn also überhaupt Abspaltung von Phenolmolekülen stattfindet, so kann dies nur sehr gering sein und ist weit davon entfernt, irgend einmal eine Karbolvergiftung verursachen zu können. » (ZOLTAN VON VAMOSSY : *Ist « Purgen » ein schädlicher Abführmittel.* Münchener medizinischer Wochenschrift, 1903, N° 26).

il n'a constaté aucune augmentation. Ses résultats, comme il le reconnaît lui-même, ne sont cependant pas à l'abri de toute critique, le régime n'ayant pas été absolument constant pendant toute la durée des observations et l'effet purgatif lui-même diminuant invariablement les composés sulfo-conjugués de l'urine.

Conclusions des auteurs. — En somme, les conclusions des auteurs qui ont étudié l'absorption et l'élimination de la phénolphtaléine peuvent se résumer comme il suit : 1° *chez l'homme,* la phénolphtaléine introduite dans le tube digestif aux doses thérapeutiques n'est absorbée que pour une part minime, puisqu'on ne la retrouve que de façon très inconstante dans l'urine, soit en nature (1), soit sous forme de produits de décomposition sulfo-conjugués; 2° *chez l'animal,* à la suite de l'ingestion de doses très fortes, une minime quantité seulement peut être absorbée : on retrouve alors dans l'urine une très petite quantité de phtaléine en nature et on constate une certaine augmentation des dérivés sulfo-conjugués. — Dans les deux cas la plus grande partie de la phtaléine est rejetée dans les fèces.

Recherches personnelles. — J'ai fait des recherches de même ordre chez l'homme et chez l'animal en variant de diverses façons les conditions d'expérience, en particulier en recherchant l'influence des doses et des différentes voies d'administration.

Élimination chez l'homme de la phtaléine ingérée. — Chez l'homme, à la suite de l'ingestion par la voie stomacale de doses de phtaléine allant jusqu'à 0,50 gr. je n'ai presque jamais constaté la présence nette de cette substance dans l'urine par alcalinisation; dans quelques cas seulement l'addition d'une petite quantité de soude à l'urine donnait une ébauche de coloration rose, douteuse même tant elle était faible. Si l'urine était de couleur trop foncée on la décolorait préalablement au noir animal pour permettre à la réaction colorante de se montrer plus facilement.

Pour ces doses, données par la voie gastrique, je n'ai jamais observé d'augmentation des dérivés sulfo-conjugués de l'urine, chez des individus soumis à un régime constant; dans deux cas même j'ai observé une diminution nette de 0,325 à 0,250 et de 0,292 à 0,201 (chiffres moyens des 24 heures dans deux périodes de trois jours).

(1) Dans un travail dont nous ne venons d'avoir connaissance qu'après la rédaction de notre mémoire, Tumminia Pietro indique aussi que la coloration rose de l'urine chez l'homme, après ingestion de phénolphtaléine, est très inconstante. *Contributo allo studio farmacologico della fenolftaleina. Nota preventiva.* Gazetta degli ospedali e delle cliniche, 11 août 1907, 995-996).

Élimination chez l'homme de la phtaléine injectée. — Chez l'homme encore, dans un cas unique d'injection sous-cutanée de 0,30 gr. de phtaléine (précipités d'une solution alcoolique dans de l'eau salée), j'ai pu au contraire déceler la phénolphtaléine dans l'urine par simple addition de soude et cette élimination par l'urine a duré pendant deux jours. Le dosage des sulfates conjugués fait le lendemain de l'injection a donné le chiffre de 0,411 gr. et le surlendemain celui de 0,38 : ces deux chiffres sont assez élevés, les variations normales étant généralement comprises entre 0,25 gr. et 0,35 (par 24 heures). Malheureusement le dosage avant l'injection n'avait pas été fait, ce qui diminue la rigueur des conclusions possibles. Cependant 6 jours après, l'individu étant soumis à un régime à peu près identique à celui des jours qui avaient fourni les précédentes urines, un nouveau dosage donna un chiffre nettement plus bas, 0,295.

Élimination de la phtaléine chez l'animal. — Chez les animaux il est plus facile d'étudier l'influence des doses et des diverses voies de pénétration.

Chez le lapin et chez le chien, l'injection dans l'estomac de petites quantités de phénolphtaléine (0,01 gr. à 0,05 par kilogramme d'animal) n'est suivie d'aucune élimination en nature dans l'urine ni d'aucune modification des sulfates conjugués. Au contraire, à la suite de l'ingestion de fortes doses, l'urine peut donner une faible réaction rose par addition d'alcali et le taux des dérivés sulfo-conjugués peut s'y élever, ainsi que l'avait constaté DE VÁMOSSY. (Le chien seul, en raison du volume d'urine qu'il peut fournir, nous a servi pour les recherches sur les sulfates conjugués.)

Ces divers résultats deviennent beaucoup plus nets si, au lieu de donner la phtaléine aux animaux par la voie stomacale, on l'injecte sous la peau ou dans les veines, soit en solution alcoolique, soit à un état de division extrême dans une solution d'eau salée où l'on a précipité une solution alcoolique.

Élimination chez l'animal du sodophtalyl ingéré. — L'emploi du sodophtalyl est bien plus approprié que celui de la phtaléine elle-même pour montrer l'élimination de cette substance et ses transformations possibles dans l'organisme. L'urine des animaux qui ont ingéré une dose moyenne de sodophtalyl donne de façon très intense la réaction de la phtaléine, tandis que l'urine des animaux qui ont été soumis même à des doses très élevées de phénolphtaléine en nature ne donne qu'une faible réaction. L'augmentation des sulfates conjugués y est de plus beaucoup plus manifeste que dans cette dernière.

Expérience. — Trois lapins de 2,800 kgr., 2,870 kgr. et 3,250 kgr. reçoivent dans l'estomac au moyen d'une sonde œsophagienne chacun 1 gramme de sodophtalyl en solution à 3 °/₀₀. On les met chacun dans une cage pour recueillir les urines.

10 heures après on examine les urines des bocaux et on y obtient par addition de soude une *forte réaction colorée*. L'urine retirée alors de la vessie par cathétérisme donne une réaction aussi intense.

Huit jours plus tard, les mêmes animaux, qui n'ont subi que des variations de poids insignifiantes, reçoivent respectivement par la même voie, 3 gr., 4 gr. et 6 grammes de phénolphtaléine en suspension dans un peu d'eau additionnée de gomme arabique. 10 heures plus tard, les urines recueillies et traitées comme précédemment ne donnent qu'une *très faible coloration rose*. Cette même réaction se maintient pendant les 4 jours suivants, tandis que dans le cas précédent la réaction colorée avait disparu à la fin du deuxième jour après l'injection.

A remarquer que dans le cas de la phtaléine, les lapins n'ont eu que peu de diarrhée et dans le cas du sodophtalyl une diarrhée très accentuée.

L'expérience que nous venons de citer, et qui n'est qu'un type entre de nombreuses autres, montre nettement que l'absorption est beaucoup plus forte et plus rapide dans le cas du sodophtalyl que dans le cas de la phtaléine et que l'élimination se fait aussi beaucoup plus vite. (Remarquons accessoirement ici, que l'action purgative est aussi bien plus marquée.)

Élimination, chez l'animal, du sodophtalyl injecté. — Des conclusions de même nature s'imposent — et les différences ne font que s'exagérer — lorsqu'on compare les phénomènes d'élimination consécutifs aux injections sous-cutanées ou intra-veineuses de la phtaléine et de son sel.

Chez le lapin ou chez le chien, 10 à 15 minutes après l'injection sous-cutanée de 0,10 gr. à 0,20 gr. de sodophtalyl par kilogramme, l'élimination commence à se faire dans l'urine : l'urine est incolore, mais l'addition de soude y développe la réaction caractéristique.

Cette réaction va en augmentant d'intensité pendant les premières heures, puis décroît progressivement pour cesser au bout de deux ou trois jours. A la suite de l'injection *intra-veineuse* des mêmes doses, la réaction apparaît déjà au bout de cinq minutes et même assez souvent plus tôt.

Enfin les injections intra-veineuses ou sous-cutanées du chromosel sont toujours suivies d'une augmentation des sulfates conjugués de l'urine.

Élimination, chez l'homme, du sodophtalyl ingéré et injecté. — Chez l'homme l'ingestion de 0,20 gr. à 0,40 gr. de sodophtalyl ne donne que rarement la réaction de la phtaléine dans l'urine. Les variations des dérivés sulfo-conjugués sont peu nettes dans ce cas, cependant ces éléments paraissent plutôt augmentés.

L'injection sous-cutanée, que nous avons faite chez divers malades ou individus normaux, à la dose de 0,15 gr. à 0,30 gr. en solution à 3 % dans du sérum physiologique, amène une élimination rapide : *20 minutes après l'injection*, la phtaléine se retrouve dans l'urine, la réaction colorée est assez intense pendant les premières heures et diminue ensuite peu à peu d'intensité; elle disparaît au bout de 12 à 18 heures, suivant la dose injectée. C'est enfin par la méthode de l'injection sous-cutanée qu'on peut mettre bien en évidence chez l'homme l'augmentation des dérivés sulfo-conjugués.

Élimination par les fèces. — Dans tous les cas examinés ci-dessus, on retrouve la phtaléine dans les matières, même dans le cas d'injections sous-cutanées ou intraveineuses de phtaléine ou de sodophtalyl. Elle est cependant surtout abondante quand elle a été introduite par l'estomac.

Conclusions. — Des diverses recherches que nous venons de résumer, nous pouvons conclure que, soit chez l'animal, soit chez l'homme, 1° la phénolphtaléine, si elle est ingérée en assez grande quantité, est pour une minime part absorbée et s'élimine par l'urine en provoquant le plus souvent une augmentation du taux des sulfates conjugués; la plus grande partie est simplement rejetée avec les matières fécales; si elle est injectée sous la peau ou dans le sang, son élimination par l'urine est beaucoup plus active, et plus élevée aussi l'augmentation des sulfates conjugués; 2° le sodophtalyl, ingéré ou injecté, est absorbé dans de plus grandes proportions et éliminé plus rapidement que la phtaléine et provoque plus facilement l'augmentation des dérivés sulfo-conjugués.

L'élimination facile et rapide du sodophtalyl injecté sous la peau et sa non-toxicité nous ont amené à utiliser ce composé pour l'étude de la perméabilité rénale. Nous donnerons ultérieurement le compte-rendu de ce genre de recherches.

Élimination de la phtaléine et du sodophtalyl par diverses sécrétions autres que l'urine. — Ce n'est pas seulement par l'urine que peuvent s'éliminer la phénolphtaléine et son dérivé soluble à la suite de leur injection sous la peau ou dans le torrent circulatoire. En injectant la phtaléine et surtout le sodophtalyl sous la peau ou dans les veines chez des animaux préalablement fistulisés, j'ai pu retrouver la réaction de la phtaléine dans les divers sucs écoulés des fistules : la salive, le suc intestinal, les larmes même des animaux ainsi traités ont donné plus ou moins rapidement après l'injection intra-veineuse une coloration rose par addition d'alcali. Au bout d'un quart d'heure à une demi heure après l'injection, ces diverses sécrétions commencent à donner une réaction positive.

Expérience. — Chien 16,500 kgr. chloralosé à 0,08 gr. par kilogramme.

Fistule du canal de Warthon, du canal de Wirsung et du cholédoque après ligature du cystique. On isole en outre une anse jéjunale pour recueillir le suc intestinal (ligature à un bout, canule fixée à l'autre bout).

A 4 h. 5', on injecte dans un veine 1 gramme de sodophtalyl en solution à 3 % dans de l'eau salée. La sécrétion de la bile et celle du suc pancréatique s'accélèrent un peu.

Pour obtenir une quantité notable des divers sucs, on fait quelques injections de sécrétine et on excite la corde du tympan. Toutes les sécrétions s'accélèrent nettement.

A 4 h. 30', on alcalinise chaque échantillon de suc ; la salive donne une coloration rose assez intense, le suc pancréatique une faible coloration rose, la bile une très forte coloration rouge, le suc intestinal une coloration de moyenne intensité.

L'animal sacrifié, on recherche la réaction de la phtaléine dans le contenu stomacal et au contact de la muqueuse gastrique : elle est négative.

Expérience. — Lapin 4 kilogrammes. Sous quelques inhalations de chloroforme on fait une fistule du cholédoque et du canal de Wirsung et on isole une anse intestinale qu'on lave à l'eau salée.

A 9 h. 45', on injecte dans la veine de l'oreille 0,15 gr. de sodophtalyl en solution à 3 %.

10 minutes plus tard, on constate par addition de soude la présence de phtaléine dans le suc pancréatique, dans le suc intestinal et surtout dans la bile. Un peu de salive recueillie dans la bouche l'indique aussi très nettement.

L'animal ayant donné quelques larmes peu de temps après l'injection, celles-ci se colorent très bien par addition de soude.

Le dérivé soluble de la phénolphtaléine s'élimine ainsi avec une grande facilité par les divers émonctoires une fois que son absorption a pu se faire. Cette élimination active est en relation directe avec sa faible toxicité.

Action solubilisante de l'urine et de la bile sur la phtaléine. — Formes d'élimination de la phtaléine dans ces liquides. — L'élimination est même si intense dans certains produits d'excrétion comme l'urine et la bile que la coloration rouge prise par ces liquides (filtrés et absolument limpides) est infiniment plus accentuée que celle d'une solution aqueuse saturée de phtaléine. Ce fait semble pouvoir s'interpréter assez simplement en invoquant un pouvoir dissolvant de l'urine et de la bile vis-à-vis de la phénolphtaléine. La phtaléine ne se trouvant pas dans ces liquides à l'état de chromosel de soude (puisque ces liquides ne présentent pas spontanément de coloration rose), pourrait en effet y être simplement dissoute à la faveur de principes spéciaux entrant dans leur constitution. Dans le but de vérifier cette hypothèse, j'ai fait les expériences suivantes.

Des échantillons d'urine humaine ou animale (chien, lapin) sont mis en contact avec de la phénolphtaléine en poudre et les mélanges agités fréquemment, à la température de 40°, pendant des temps variant d'une

demi-heure à deux heures. Puis on filtre les mélanges et on recherche la réaction de la phtaléine dans les filtrats pour comparer son intensité avec celle du filtrat témoin d'un mélange de phtaléine et d'eau distillée : la réaction est positive, mais n'est pas plus intense que dans le liquide témoin, c'est plutôt le contraire.

On fait la même recherche, mais en opérant à la température du laboratoire et pendant des temps de contact de 8 à 10 heures : même résultat.

Dans une troisième série d'expériences, au lieu de se servir de phtaléine en poudre, on part d'une solution alcoolique de phtaléine qu'on précipite d'une part dans les échantillons d'urine et d'autre part dans de l'eau distillée ou de l'eau salée témoin : la phtaléine se trouve ainsi à un état très divisé réalisant une excellente condition pour faciliter sa dissolution. Les mélanges sont composés par exemple de 60 c.c. d'urine ou d'eau et de 10 c.c. d'une solution alcoolique de phtaléine à 5 °/₀. On les met à l'étuve à 40° et, après les avoir agités souvent, on les filtre pour examiner la réaction de la phtaléine comme précédemment. Le filtratum des mélanges d'urine reste en général un peu trouble, opalescent, malgré plusieurs filtrations successives, mais ne contient cependant pas de particules solides en suspension. Or par addition de soude il donne une coloration bien plus accentuée que le filtratum témoin du mélange aqueux. Néanmoins cette coloration, quel qu'ait été le temps de contact avec la phtaléine, n'est jamais aussi intense que celle d'une urine (filtrée) provenant d'un animal qui a reçu en injection intra-veineuse une proportion notable de sodophtalyl.

Les mêmes résultats s'obtiennent avec des mélanges de bile.

Les conclusions qui découlent de ces expériences peuvent donc se résumer comme il suit.

1° *L'urine et la bile exercent une action solubilisante sur la phénolphtaléine* très divisée. Cette action peut être d'ailleurs une action de solubilisation vraie, sans modification chimique de la phtaléine, ou une action de transformation en un dérivé soluble qui donnerait naissance au chromosel par addition de soude.

2° *L'urine et la bile des animaux qui ont reçu des injections intra-veineuses de doses assez fortes de sodophtalyl contiendraient la phtaléine sous deux états possibles :* a) *ou partiellement en nature et partiellement sous la forme d'un ou de dérivés solubles incolores,* mais donnant la réaction de la phtaléine par addition de soude ; b) *ou totalement sous la forme de ces dérivés solubles.*

Nature des formes solubles d'élimination de la phtaléine dans l'urine ou la bile. — Ces dérivés pouvaient être par exemple des composés résultant de la combinaison de la phénolphtaléine avec certaines bases organiques (amine, bases créatiniques ou xanthiques) qui seraient mises en liberté par addition

d'un alcali, ou plutôt un corps sulfo-conjugué résultant de la conjugaison de la molécule de phtaléine aux sulfates, une ***phénolphtaléine-sulfate.*** Cette dernière hypothèse nous séduirait assez, étant donné ce que nous avons dit de l'augmentation des dérivés sulfo-conjugués après l'absorption de la phtaléine et de son dérivé soluble. Elle trouverait encore un argument en sa faveur dans le rapport direct qui existe dans l'urine entre l'intensité de la coloration par la soude et l'augmentation des dérivés sulfo-conjugués.

Comme les composés phénoliques sont éliminés par l'urine non seulement à l'état de sulfo-conjugués, mais aussi — quoique pour une part plus faible — à l'état de conjugués avec l'acide glycuronique, nous avons pensé, DERRIEN et moi, à rechercher si une partie de la phénolphtaléine ne s'éliminerait pas à l'état de glycuro-conjugué.

Chez le chien, des expériences préliminaires nous ont montré que cette forme de conjugaison n'intervient pas dans l'élimination de la phtaléine *injectée* à l'état de sodophtalyl sous la peau, et semble n'exister que pour une faible part dans l'élimination de la phtaléine *ingérée* (toujours au même état). Les différences observées entre les urines des chiens ayant absorbé la phtaléine et les urines des chiens auxquels nous avons injecté cette substance nous semblent devoir être mises sur le compte de l'intervention du foie dans le processus de glycuro-conjugaison (1). Nous nous proposons de continuer et compléter ces recherches et notamment de voir si, à la suite d'injections de sodophtalyl pratiquées directement dans la veine porte, le taux des composés glycuro-conjugués augmente dans l'urine notablement plus que dans le cas de la simple ingestion de ce produit.

La formule de la phénolphtaléine étant

$$C^6H^4 \left\langle \begin{matrix} C \left\langle \begin{matrix} C^6H^4.OH \\ C^6H^4.OH \end{matrix} \right. \\ CO \end{matrix} \right\rangle O$$

et celle des phénylsulfates $SO^4 <^{M}_{C^6H^5}$, le composé sulfo-conjugué pourrait par exemple répondre à l'une des formules suivantes :

$$SO^4 \left\langle \begin{matrix} M \\ C^6H^3 \left\langle \begin{matrix} C \left\langle \begin{matrix} C^6H^4.OH \\ C^6H^4.OH \end{matrix} \right. \\ CO \end{matrix} \right\rangle O \end{matrix} \right. \qquad \text{ou bien} \qquad C^6H^4 \left\langle \begin{matrix} C \left\langle \begin{matrix} C^6H^4.\!-\!SO^4\!-\!M \\ C^6H^4.OH \end{matrix} \right. \\ CO \end{matrix} \right\rangle O$$

(A) (B)

(1) Cf. EMBDEN : *Ueber die Bildung gepaarter glykuronsäure in der Leber.* Hofmeister's Beiträge. 2, 591. 1902.

ou encore

$$C\begin{cases} C^6H^4 — SO^4 \backslash M \\ C^6H^4 — SO^4 / M \end{cases} \quad C^6H^4 \diamond O \quad CO \qquad (C)$$

Dans le premier cas (A), la coloration rouge obtenue par addition de soude serait due à la formation d'un sel alcalin *sulfo-conjugué* de la phtaléine, sel qui, par suite de la transformation tautomérique (quinonique) de la phtaléine, aurait pour formule :

$$SO^4 < \begin{matrix} M \\ C^6H^3 < \begin{matrix} C \begin{matrix} C^6H^4.ONa \\ = C^6H^4 = O \end{matrix} \\ CO^2Na \end{matrix} \end{matrix}$$

Il est cependant peu vraisemblable que la sulfo-conjugaison porte sur le noyau aromatique qui ne possède pas la fonction phénol ($C^6H^4<$), alors que les deux autres noyaux aromatiques possèdent cette fonction ($C^6H^4.OH$—), intermédiaire nécessaire de la sulfo-conjugaison. La formule A est donc à rejeter. Dans le second cas (B et C), la coloration serait due au chromosel lui-même par suite de la séparation du radical $SO^4<^M$ du reste de la molécule et de la transformation quinonique consécutive de la phtaléine.

Si, comme nous l'avons fait, on adopte pour le composé sulfo-conjugué incolore la formule de la constitution lactonique, on suppose que la phénolphtaléine est conjuguée à l'état libre et non à l'état de sel. Mais on pourrait concevoir cependant que, dans le composé sulfo-conjugué incolore, la phtaléine se trouvât incluse déjà à l'état de sel et la formule de ce composé devrait dès lors être représentée comme étant de constitution quinonique :

$$C^6H^4 < \begin{matrix} C < \begin{matrix} C^6H^4 — SO^4 \backslash M \\ = C^6H^4 = O \end{matrix} \\ CO^2Na \end{matrix}$$

Dans ce cas, la coloration rouge obtenue par addition de soude amènerait la scission de la molécule en $SO^4<^M_H$ et en chromosel régénéré.

Dans le mode d'élimination par conjugaison que nous venons d'examiner, il n'a été question que de la formation possible de composés *sulfo-conjugués* proprement dits, c'est-à-dire d'*aryl-sulfates,* de formule générale $SO^4 \begin{smallmatrix} Ar \\ M \end{smallmatrix}$. Pour être complet cependant, nous devons nous demander si la phénolphtaléine ne pourrait pas se conjuguer au soufre pour aboutir à la formation soit de composés dits « *sulfones* », de forme

R R'
\ /
S
// \\
O O

, soit de composés dits « *acides sulfoniques* » ou « *sulfonés* » (ou *sulfureux*), de forme $SO^3{<}^{H}_{R}$.

Bien que certains dérivés sulfonés de la phénolphtaléine aient été signalés et étudiés par certains auteurs, tel que IRA REMSEN (1) et MICHAEL DRUCK SOHON (2), nous ne croyons pas pouvoir appliquer ces données à l'élimination de la phénolphtaléine et du sodophtalyl : on n'a jamais démontré, à notre connaissance, que l'organisme puisse faire des sulfones; le seul cas connu est celui de la *taurine,* qui est un acide sulfonique, et qui ne semble pas devoir être interprété physiologiquement comme une forme d'élimination par conjugaison. L'élimination par conjugaison au soufre n'a jamais été démontrée qu'à l'état de sulfates ($SO^4{<}$).

La présence dans l'urine ou la bile d'une phénolphtaléine sulfo-conjuguée n'excluerait pas la possibilité de la présence simultanée de dérivés sulfo-conjugués sous forme de *phénylsulfates proprement dits.* Cependant ces derniers, s'ils existent, ne peuvent se trouver qu'en très petite quantité, étant donné le rapport que nous venons de signaler entre l'intensité de la réaction colorante de l'urine à la soude et l'augmentation des dérivés sulfo-conjugués. Leur présence est d'ailleurs peu vraisemblable étant donné, comme nous allons le voir, la stabilité dans l'organisme de la phénolphtaléine et du sodophtalyl.

Absence de dédoublement de la phénolphtaléine et du sodophtalyl dans l'organisme. — La phénolphtaléine et son dérivé sont en effet des composés très stables, dont la molécule ne doit pas se scinder dans l'organisme en ses composants, phénol et acide phtalique. Nous avons recherché si divers organes ou liquides organiques, tels que le foie, le rein, la muqueuse intestinale, le sang, et même les microbes et les sucs du contenu intestinal pouvaient opérer cette décomposition. Les expériences sur les tissus ont été faites avec le produit de broyage de ces tissus (au broyeur Borrel) émulsionné dans du sérum physiologique et additionné de

---

(1) IRA REMSEN : Amer. chem. Journ., VI, p. 180.
(2) MICHAEL DRUCK SOHON : Amer. chem. Journ., XX, p. 257-278; 8-5-98.

quantités variables de phénolphtaléine très divisée ou de son chromosel, à la température de 37° à 40°. Dans aucun cas, après un temps de contact plus ou moins long des tissus, du sang, des microbes ou des sucs intestinaux avec la phtaléine ou le sodophtalyl, l'intensité de la réaction colorante obtenue par addition de soude au milieu ne s'est montrée diminuée. La phénolphtaléine n'est donc nullement décomposée dans ces diverses conditions.

Ces conclusions demanderaient à être corroborées, pour le cas du foie et du rein, par des circulations artificielles pratiquées dans ces organes avec des liquides additionnés de proportions déterminés de chromosel. Le temps nous a manqué jusqu'à aujourd'hui pour les entreprendre.

Ci-dessous un protocole d'expérience montrant les détails de la technique que nous avons employée pour ce genre de recherches.

Expérience. — 100 grammes de contenu intestinal de lapin sont ajoutés à 500 c.c. d'une solution de sodophtalyl à 0,12 gr. °/₀ : celle-ci est immédiatement décolorée.

On prélève dans le mélange un échantillon de 50 c.c. auquel on ajoute de la soude jusqu'à ce que la coloration rouge soit revenue à son maximum d'intensité ; on l'additionne alors de son propre volume d'alcool à 95° pour coaguler l'albumine qui peut l'être et surtout pour empêcher un développement microbien ultérieur. On dépigmente le tout avec 10 gr. de noir animal, on filtre et on garde la solution filtrée, d'un rouge fuchsine net et très limpide, comme étalon colorimétrique.

On place alors à l'étuve à 40° le mélange primitif.

Le lendemain, 18 heures après, on place dans ce mélange un nouvel échantillon de 50 c.c. qu'on traite exactement comme le précédent. Au colorimètre, la comparaison avec l'étalon ne montre aucune différence.

Pendant les jours suivants, de nouveaux échantillons donnent toujours des colorations aussi intenses que l'étalon.

Un mois après le début de l'expérience, le mélange étant toujours resté à l'étuve, la coloration par alcalinisation n'est pas plus faible que celle de l'étalon, bien qu'il se soit développé successivement dans le milieu des séries variées de flores microbiennes.

Action solubilisante de certaines bases organiques sur la phtaléine. — Nous avons précédemment émis l'idée que le composé soluble de la phtaléine pourrait encore être dans l'urine ou dans la bile une combinaison de la phtaléine avec une base organique. Dans le but de vérifier cette hypothèse, nous avons recherché si certaines bases organiques connues seraient susceptibles de se combiner à la phtaléine pour fournir des composés incolores se colorant en rouge par addition de soude. Notre technique a consisté à mettre en contact, en agitant pendant quelques minutes à un quart d'heure, de la phtaléine en poudre avec une solution aqueuse de la base en question et à comparer sur le filtratum l'intensité

de la coloration par addition de soude à celle que fournit un filtratum témoin d'un mélange d'eau et de phtaléine fait dans les mêmes proportions.

Les bases ou les corps à fonction complexe partiellement basique que j'ai examinés sont la choline, la xanthine, la créatine, la créatinine, l'asparagine, la pyridine. Or les filtrats des mélanges de phtaléine avec la xanthine, l'asparagine, la pyridine et surtout la créatine et la créatinine ont donné des colorations nettement plus intenses que le filtrat témoin.

La présence de ces diverses bases a donc eu une action solubilisante sur la phénolphtaléine. Mais cette action solubilisante est-elle due à la formation d'une combinaison avec la base organique ou à une simple dissolution de la phtaléine? C'est ce que cette méthode ne nous permet pas d'indiquer. En tout cas, qu'il s'agisse de l'un ou de l'autre mécanisme, ces expériences paraissent expliquer assez bien comment la phtaléine ou ses dérivés peuvent se trouver en assez grande quantité dans l'urine : la xanthine, la créatine, la créatinine (et d'autres corps de la même série) peuvent vis-à-vis de la phtaléine jouer un rôle analogue à celui que nous leur avons reconnu *in vitro*.

Expérience. — On mélange 20 c.c. d'eau et 0,50 gr. de phénolphtaléine en poudre. Après avoir agité pendant 1/4 d'heure, on filtre.

10 c.c. du filtratum additionnés de 2 gouttes d'une solution de soude à 5 % donnent une faible coloration rose qui va servir d'étalon colorimétrique.

Un mélange identique, additionné de 0,20 gr. de *xanthine* (presque complètement insoluble dans l'eau) et traité ensuite dans les mêmes conditions, donne un filtratum qui, par addition de 2 gouttes de la solution de soude, présente une *coloration légèrement plus forte que l'étalon.*

Pour un mélange additionné de 0,20 gr. de créatine (amine-acide), *coloration du filtratum beaucoup plus forte que l'étalon.*

Pour un mélange additionné de 0,20 gr. de *créatinine, coloration nettement plus foncée que l'étalon* (un peu moins que dans le cas de la créatine).

Mélange avec la *choline :* la choline employée est un liquide sirupeux, brun foncé, ayant une forte odeur d'ammoniaque, donc très altérée; réaction fortement alcaline au tournesol et à la phénolphtaléine. On la neutralise par HCl avant de l'employer pour le mélange. — La coloration obtenue à la suite du traitement habituel n'est pas plus forte que celle de l'étalon. - Mais ce résultat est *peu concluant*, vu l'altération du produit que nous avons eu entre les mains.

Pour un mélange additionné de *pyridine*, la *coloration est bien plus foncée que celle de l'étalon.*

Pour un mélange, additionné *d'asparagine* (amide — acide — amine), *coloration un peu plus forte que le témoin.*

Recherche de la phtaléine dans le sang à la suite de son administration en nature ou sous forme de sodophtalyl. — Action solubilisante du sang. — L'élimi-

nation facile du dérivé soluble de la phtaléine dans l'urine et les diverses sécrétions m'a amené à rechercher si l'on pourrait décéler la phtaléine ou ses dérivés dans le sang à la suite de l'injection dans l'estomac, sous la peau ou dans les veines. Cette étude a été faite sur le lapin et sur le chien.

Dans le cas de l'administration de phénolphtaléine en nature par la voie gastrique, je n'ai jamais pu déceler la présence de cette substance dans le sérum sanguin par addition de soude, même après l'emploi de très fortes doses et dans des cas où l'on obtenait cependant la réaction de la phtaléine dans l'urine. La phtaléine en nature, bien qu'absorbée en quantité suffisante pour pouvoir être retrouvée dans l'urine, ne circule donc pas en assez grande quantité dans le sang pour que nos méthodes chimiques puissent y démontrer sa présence.

C'est que les faibles proportions absorbées ne passent que très lentement et très progressivement dans le torrent circulatoire.

Au contraire, à la suite de l'injection sous-cutanée d'une solution alcoolique de phtaléine ou à la suite de l'injection intra-veineuse d'une émulsion fine de solution alcoolique dans de l'eau salée, on retrouve facilement la phtaléine dans le sérum sanguin, qui donne par alcalinisation avec la soude une coloration rose très nette.

L'intensité de cette réaction est beaucoup plus forte si, au lieu d'employer la phénolphtaléine elle-même, on emploie le sodophtalyl. Dans ce cas on peut l'obtenir non seulement à la suite de l'injection sous-cutanée ou intra-veineuse, mais aussi à la suite de l'injection dans l'estomac, ainsi que le montre l'expérience suivante, prise au hasard entre plusieurs semblables.

Expérience. — Lapin, 2,950 k. Injection intra-stomacale de 1,20 gr. de sodophtalyl en solution à 4 %.

2 heures, 3 heures et 5 heures après l'injection, on retire par une artériole des échantillons de sang qu'on centrifuge pour obtenir le sérum.

L'addition de quantités progressives de soude au sérum ne donne aucune coloration rose.

Le lendemain, 12 heures après l'injection, on fait une nouvelle prise de sang : *le sérum donne très nettement la réaction de la phtaléine.*

40 heures après l'injection, un nouvel échantillon de sang ne donne plus la réaction.

L'urine du lapin, qui donnait, le jour et le lendemain de l'injection, une réaction très intense, ne contenait plus trace de phtaléine 48 heures après l'injection.

Cette expérience est une preuve de plus en faveur de la rapidité de l'absorption et de l'élimination du dérivé soluble de la phtaléine.

État de la phtaléine dans le sang. — Est-il possible de savoir maintenant sous quelle forme circule la phtaléine dans le sang ? Ce n'est

pas sous forme de chromosel, car le sérum ne présente spontanément aucune coloration rose. Est-elle alors simplement dissoute ou au contraire à l'état de combinaison soluble incolore?

J'ai comparé à ce point de vue la réaction colorée obtenue par alcalinisation du sérum des animaux soumis à de fortes injections intra-veineuses de sodophtalyl à celles que donnent les filtrats de mélanges de phtaléine et d'eau salée d'une part, de phtaléine et de sérum sanguin normal d'autre part. Or la coloration obtenue dans le cas du mélange *in vitro* de sérum sanguin (ou de sang) et de phtaléine est toujours plus intense que les deux autres.

L'action solubilisante du sérum est ainsi des plus manifestes.

Expérience. — On fait une prise de sang artériel sur un chien de 18 k. et on centrifuge pour avoir le sérum.

A/ 20 c.c. de ce *sérum du chien normal* sont additionnés de 1,5 c.c. d'une solution alcoolique saturée de phénolphtaléine.

(On verse le sérum dans la phtaléine pour avoir une émulsion très fine au lieu d'une précipitation en grumeaux). Le sérum, qui est alcalin au tournesol, ne donne aucune coloration avec la phtaléine. On agite souvent.

Trois heures plus tard, on ajoute 80 c.c. d'eau distillée, pour faciliter la filtration, et on filtre plusieurs fois jusqu'à obtention d'un liquide limpide.

Ce liquide, traité par la soude, donne une *très forte coloration rouge.*

B/ 20 c.c. d'eau salée à 9 °/₀₀ sont additionnés de 1,5 c.c. de la solution alcoolique saturée de phtaléine. Trois heures plus tard, on ajoute comme précédemment 80 c.c. d'eau distillée et on filtre.

Le liquide filtré traité par la soude, ne donne qu'une *très faible coloration rose.*

C/ 20 c.c. *du sérum du chien précédent auquel on a fait une injection intra-veineuse de 8 gr. de sodophtalyl* sont additionnés de 80 c.c. d'eau distillée pour être mis dans des conditions de dilution identiques aux précédents échantillons.

Le liquide ainsi obtenu donne une *forte coloration rouge avec la soude, mais nettement moins intense que dans le cas précédent.*

Expérience. — Lapin 2,300 k.

A/ 10 c.c. de sérum normal de ce lapin sont additionnés de 1 c.c. de la solution alcoolique saturée de phtaléine. Au bout de 18 heures on ajoute au mélange 40 c.c. d'eau distillée et on filtre.

Le filtratum donne avec la soude une *très forte coloration rouge.*

B/ 10 c.c. du sérum de ce même lapin auquel on a fait une injection intra-veineuse de 2 grammes de sodophtalyl, dilués comme l'échantillon précédent avec 40 c.c. d'eau, donnent avec la soude une *coloration rouge nette,* mais qui, à l'examen colorimétrique, se montre *cinq fois moins intense que la précédente.*

Ces expériences, qui répétées avec le sang défibriné ou le sang total oxalaté donnent les mêmes résultats, montrent nettement que *le sérum sanguin et le sang exercent sur la phénolphtaléine **une action solubilisante** des plus marquées.* Mais s'agit-il ici d'une action de solubilisation vraie ou d'une action de solubilisation par transformation chimique? Nous n'avons pas

d'argument qui nous permette actuellement de répondre à cette question d'une façon certaine. Cependant comme nous avons démontré que dans l'urine la phtaléine existe sinon en totalité, du moins partiellement sous forme de dérivé soluble (donnant la réaction de la phtaléine par addition de soude), il est fort probable qu'il en soit de même dans le sang, à moins d'admettre que la transformation en dérivé soluble soit localisée au niveau du rein.

Réaction des liquides organiques et des tissus à la phtaléine. — Au point de vue de la réaction des liquides organiques ou des tissus vis-à-vis de la phénolphtaléine, remarquons en finissant qu'elle n'est, presque pour tous, jamais alcaline, même pour ceux qui sont nettement alcalinés au tournesol. C'est que l'alcalinité des humeurs de l'organisme n'est qu'une alcalinité apparente, due en réalité à la présence de sels chimiquement acides, tels que les biphosphates et les bicarbonates. Quant à la réaction du suc pancréatique fortement alcaline au tournesol, due d'après les auteurs surtout à la présence de carbonates (et non de bicarbonates), elle n'est que très légèrement alcaline à la phtaléine; pour expliquer ce fait, nous pensons que si elle est si peu alcaline à la phtaléine, c'est qu'en réalité les carbonates du suc pancréatique (de même sans doute que ceux de la bile) ne doivent pas être pour la plupart à l'état libre, mais combinés plus ou moins aux matières albuminoïdes abondantes dans ce liquide.

Quoi qu'il en soit, les contenus de l'estomac, de l'intestin grêle et du gros intestin ne présentent pas de réaction alcaline à la phtaléine; si même le chromosel est introduit dans l'intestin en petite quantité, il est décoloré; sa coloration ne se maintient que s'il est ajouté en excès. La phénolphtaléine en nature introduite dans le tube digestif ne nous semble donc pas susceptible de donner naissance au chromosel alcalin, le contenu intestinal ne présente d'ailleurs pas de coloration rose à la suite de l'administration de phtaléine et il ne nous paraît pas admissible que la phtaléine introduite *en nature* dans le tube digestif puisse être absorbée même partiellement à l'état de chromosel. Son absorption minime ne doit donc se faire qu'à la suite de l'action de solubilisation qu'exercent sur elle les liquides intestinaux, tout comme le sérum sanguin et l'urine.

CHAPITRE IV.

Action purgative de la phénolphtaléine et du sodophtalyl. — Mécanisme de cette action.

Action purgative de la phtaléine. — Caractères cliniques de cette action. — Nous avons exposé au début de ce mémoire comment Zoltán de

VÁMOSSY avait été amené à découvrir l'action purgative de la phénolphtaléine. Tandis que dans ses expériences cette substance n'avait eu chez les animaux aucun effet purgatif, chez l'homme au contraire l'administration de doses variant de 0,20 gr. à 1 gramme eut une action des plus nettes sur le tube digestif. Trois heures après l'ingestion de 1 gramme à 1,50 gr. de phtaléine, l'auteur et un autre sujet en expérience eurent des évacuations alvines extrêmement abondantes qui se répètèrent de 4 à 5 fois en 10 heures, sans coliques ni ténesme, et les deux jours suivants les selles resfèrent molles. Des doses moyennes, de 0,20 gr. à 0,30 gr. suffisent d'ailleurs à produire un effet analogue, qui commence à se manifester deux ou quelques heures après l'ingestion. Le temps d'apparition de l'effet varie d'ailleurs comme pour tous les purgatifs suivant les habitudes de l'intestin.

De plus petites doses agissent très bien comme doses laxatives et suffisent en général pour provoquer une ou deux évacuations.

Chez l'enfant, des doses de 0,05 gr. à 0,10 gr. agissent bien.

Chez les individus alités depuis longtemps, chez lesquels l'intestin est nécessairement plus paresseux, on est en général obligé de renforcer un peu les doses, mais l'action purgative se produit toujours très facilement.

Les divers auteurs qui, depuis DE VÁMOSSY, ont mis à profit l'action de la phtaléine, sont unanimes à reconnaître en cette substance un bon purgatif, caractérisé par l'absence de coliques et par l'aspect liquide des selles auxquelles il donne lieu.

J. WENHARDT (de Budapest) en 1902 l'avait déjà expérimenté avec le plus grand succès sur 100 malades de diverse nature qui eurent des évacuations faciles et indolores. UNTERBERG (120 cas), TUNNICLIFFE la même année, publient des résultats tout aussi encourageants.

De diverses parts ensuite les observations s'accumulent, qui ne font que corroborer les assertions des auteurs précédents : à l'étranger ou en France, BÓKAY (1), KORÁNYI, KOHTS, KÉTLY (2), GAUDIN, SUZOR, CORBY, TISON et la thèse de VIVIEN (3) faite dans son service, KAMINSKY, BARDET, LEGRAND (4) apportent aussi leur contribution à l'étude clinique du nouveau purgatif; ROBERT WERNICKE (5) fait en 1904 une étude basée sur

(1) BÓKAY, KORANYI, KOTS. KÉTLY. Cités in MARTIN MENDELSOHN : *Ueber Abführen und Abführmittel,* Deutsche Aerzte-Zeitung. Berlin, 15 janvier 1905.

(2) GAUDIN : *Le purgène.* Gazette des hôpitaux, 1903. I, 1225.

(3) AUGUSTIN VIVIEN : *Propriétés thérapeutiques du dihydroxyphtalophénone (Purgen).* Th. Paris, 1905.

(4) SUZOR : Progrès médical, 1903. — CORBY : *Nouveaux remèdes.* 1903. — TISON : Société médicale des praticiens, février 1904. — KAMINSKY : Médecine moderne, 9 nov. 1904. — BARDET : Société de Thérapeutique, *Nouveaux remèdes,* 1904. — LEGRAND : Médecine moderne, mars 1905. Cités in A. VIVIEN.

(5) Loc. cit.

80 cas, enfin MARTIN MENDELSOHN (1) (de Berlin), MONCORVO FILHO (2) (de Rio de Janeiro) en 1905, R. WOHLMUTH (3), L. MUNK (4) (de Vienne), BADER (5) et d'autres encore donnent le compte rendu de nombreux cas dans lesquels la phénolphtaléine a mérité de se faire une place parmi les meilleurs purgatifs. Cette substance agit en effet à faibles doses et rapidement, elle n'a localement aucun effet irritant sur les diverses muqueuses du tube digestif; on peut la donner par exemple dans des cas d'ulcère de l'estomac sans quelle provoque le moindre symptôme douloureux; employée même à fortes doses elle n'a pas d'effet toxique; elle ne provoque, on ne saurait trop le répéter, ni coliques, ni ténesme; enfin, fait d'une extrême importance, elle n'entraîne l'accoutumance que dans des limites beaucoup plus faibles que les autres purgatifs : des doses répétées pendant longtemps peuvent garder leur activité primitive. Ajoutons encore que le plus souvent l'emploi d'une seule dose régularise les fonctions du gros intestin pendant une période plus ou moins longue.

Telles sont, résumées en quelques mots, les conclusions cliniques des divers auteurs qui ont utilisé la phtaléine et que nos recherches entreprises depuis plus de deux ans ne font que corroborer. Je me dispense de citer des observations cliniques, elles seraient légion.

Action purgative de la phtaléine expérimentalement. — Mais chez l'animal, du moins chez les animaux habituels de laboratoire (chien, lapin, cobaye), l'action sur le tube digestif est loin d'être aussi nette que chez l'homme.

ZOLTÁN DE VÁMOSSY qui est, à notre connaissance, le seul auteur qui ait étudié l'action de la phtaléine expérimentalement, n'a jamais observé d'effet purgatif chez le lapin et chez le chien, même en employant les fortes doses de 2 grammes par kilogramme.

Cette différence d'action chez l'homme et chez l'animal est une difficulté pour la recherche du mécanisme suivant lequel agit la phtaléine. C'est sans doute la raison pour laquelle le mode d'action de ce purgatif a été jusqu'à aujourd'hui si peu étudié.

Théorie de de Vámossy. — DE VÁMOSSY est en effet le seul auteur

(1) MARTIN MENDELSOHN : *Ueber Abführungen und Abführmittel.* Deutsche Aerzte-Zeitung. Berlin, 15 janvier 1905.

(2) MONCORVO FILHO : *Purgen in der Kinder Therapie.* Communication à la Sociedad de medicina e cirurgia do Rio de Janeiro, 23 mai 1905. Trad. allem. in Heilmittel Revue, sept. 1905 (n° 9).

(3) RUDOLPH WOHLMUTH : *Beitrag zur Behandlung der Obstipation mit Purgen.* Medizinische Blätter, 1906, n° 15.

(4) LUDWIG MUNCK : *Die Aetiologie und Therapie der chronischen Stuhlverstopfung.* Oestörreichiche Aerzte-Zeitung, 1907, n° 5.

(5) BADER : Oesterreichische Aerzte-Zeitung, 1905 n°, 22. Cité in L. MUNCK.

qui ait cherché à élucider ce mécanisme. La phtaléine d'après lui serait convertie dans le milieu alcalin de l'intestin en son sel de sodium soluble; ce sel, d'après les expériences de l'auteur faites *in vitro*, sur une vessie de porc, avec sa solution artificiellement préparée aurait par rapport aux autres sels de soude un pouvoir de diffusion extrêmement faible, 4 fois plus faible environ que celui du sulfate : au bout de 24 heures, par exemple, une solution à 1 °/₀ du chromosel ne laisserait diffuser à travers une vessie de porc dégraissée que 19 °/₀ du sel dans l'eau distillée du vase extérieur, tandis qu'une solution de sulfate de soude placée dans les mêmes conditions laisse diffuser 78,20 °/₀. L'auteur ajoute ensuite textuellement : « des expériences faites à la température du corps avec des fragments d'intestins excisés donnent le même résultat; plusieurs autres expériences établissent aussi que la phénolphtaléine se transforme dans l'intestin en un sel de soude soluble dans l'eau, qui, à cause de son pouvoir de diffusion excessivement faible, attire dans l'intestin de grandes quantités de liquides et produit un effet purgatif de la même façon que les sels » (1).

Ainsi, c'est la production dans la cavité intestinale, sous l'influence du sel peu diffusible, d'une très forte pression osmotique, qui provoquerait l'attraction de grandes masses de liquide.

Dans l'intestin des animaux, la transformation de la phtaléine en sel de soude soluble ne se produirait pas ou n'interviendrait que dans des limites très restreintes, ce qui expliquerait le manque d'effet purgatif.

Les divers auteurs qui, à la suite de DE VÁMOSSY, ont parlé de l'action purgative de la phtaléine, se sont ralliés à cette théorie sans faire aucune recherche nouvelle pour essayer de la démontrer ou de la contrôler et une bibliographie scrupuleuse ne nous a pas fourni d'autre indication à ce sujet.

Théorie de Brissemoret sur le mode d'action des imines quinoniques. — Citons cependant le rapprochement que fait BRISSEMORET (loc. cit.) de l'action de la phénolphtaléine, de celle de la résorufine et de certaines imines quinoniques, qui purgeraient par action excito-sécrétoire sur l'intestin.

Voici ce qu'il dit à ce sujet sur le mode d'action des imines quino-

---

(1) « Bei Körpertemperatur mit ausgeschnittenen Darmstücken angestellte Versuche ergaben dasselbe Resultat und es wurde auch durch mehrere andere Versuche bestätigt dass sich das Phenolphtalein im Dünndarme in ein wasserlösliches Natriumsalz umwandelt, welches wegen seiner aüsserst geringen Diffusionsfähigkeit zur Ansamlung bedeutender Flüssigkeitsmengen im Darme fürht und auf solche Weise ähnlich abführende Wirkung wie die Salze hervorbringt. » *Ist Purgen ein schädliches Abführmittel?* Munchener medizinischer Wochenschrift, 1903, n° 26.

niques (chlorure de diméthylpara-ammoniumphène β oxynaphtoxazine). « Pour élucider le mécanisme de leur action élémentaire, des examens de muqueuse intestinale ont été pratiqués : *a*/ au niveau d'une anse ayant contenu 15 centimètres cubes de solution de chlorure de sodium à 7 p. 1000; *b*/ au niveau d'une anse ayant contenu le même volume de solution salée additionnée de 0,75 gr. de l'imine à expérimenter; *c*/ en une zone indemne.

Ces examens ont montré que le nombre des cellules caliciformes de la portion de l'intestin soumise à l'action de l'imine devenait inférieur à celui qu'on observait dans les autres portions du tube digestif : parallèlement à cette diminution de calices, tout le revêtement épithélial était constitué par des cellules cylindriques; il est donc légitime de conclure que le contact des imines précédentes a déterminé la décharge des cellules caliciformes, partant une exosmose par l'intermédiaire des cellules de revêtement. Au moment où les fragments de muqueuse ont été prélevés et fixés, la plupart des glandes à mucus avaient déversé leur contenu et la sécrétion intestinale était en partie épuisée momentanément. »

Théorie de A. Martinet. — MARTINET (1) vient de donner récemment une explication de l'action purgative de la phénolphtaléine qui est à démontrer tout entière et se trouve même en désaccord absolu avec diverses données expérimentales. « Peu soluble dans l'eau, dit cet auteur, la phénolphtaléine ne se dédouble dans l'intestin et n'agit en conséquence.... qu'à la faveur de la saponification pancréato-intestinale; en fait, nous l'avons vue inactive dans les insuffisances pancréato-intestinales.... Le mécanisme intime de l'action laxative n'est pas encore parfaitement élucidé; toutefois il est vraisemblable qu'il est le suivant : il y a formation dans l'intestin de phénol et d'acide phtalique $C^6H^4<^{CO^2H}_{CO^2H}$; l'acide phtalique est à peu près certainement l'agent actif laxato-purgatif; c'est, en effet, une des rares substances à noyau cyclique qui soit détruite dans l'organisme avec formation d'acide oxalique $\begin{matrix} CO^2H \\ | \\ CO^2H \end{matrix}$. Or, l'acide oxalique (sel d'oseille) jouit précisément de propriétés purgatives bien connues. »

L'objection à faire immédiatement à cette théorie, c'est que rien ne prouve le dédoublement de la phénolphtaléine dans l'intestin en phénol et acide phtalique; les recherches que nous avons exposées plus haut montrent au contraire que la phtaléine ne se scinde pas dans le tube digestif en ses composants et il ne saurait donc être question d'une intervention

(1) ALFRED MARTINET : *Le principe dit du salol en pharmacodynamie.* Presse méd., 18 sept. 1907, p. 595.

de l'acide phtalique. L'absence d'action purgative de la phénolphtaléine alléguée par l'auteur dans les cas d'insuffisance pancréato-intestinale ne prouve nullement l'existence de son dédoublement dans un intestin normal, elle peut aussi bien relever d'une diminution d'excitabilité de l'élément histo-physiologique de la muqueuse intestinale sur lequel agit normalement la phtaléine elle-même.

Il n'est point prouvé non plus que l'acide phtalique soit détruit dans l'organisme, et en particulier dans l'intestin avec formation d'acide oxalique : les conclusions de JUVALTA (1) indiquant que chez le chien cet acide est décomposé en grande partie dans l'organisme ne peuvent être acceptées, car elles ne reposent que sur deux expériences faites avec une technique insuffisante, ainsi que l'a fait remarquer UG. MOSSO (2). PŘIBRAM (3) a montré au contraire que, chez le lapin, après l'injection sous-cutanée de 0,1 gr. d'acide phtalique, celui-ci est éliminé en totalité dans l'urine et qu'après l'injection intra-veineuse de 2,15 gr., il en est éliminé 1,75 gr. dans les 24 heures (4). D'ailleurs même s'il était démontré que l'acide phtalique fût oxydé dans l'organisme en quantité notable, rien ne prouverait que sa destruction puisse avoir lieu dans la cavité intestinale elle-même et il appartiendrait à des recherches spéciales d'élucider ce point. La théorie de MARTINET nous paraît donc de toutes pièces inadmissible.

Examen de la théorie de de Vamossy. — Celle de de Vámossy elle-même nous paraît peu en rapport avec ce que nous avons dit plus haut de la réaction du contenu intestinal vis-à-vis de la phénolphtaléine. Le chromosel soluble, nous l'avons vu, ne prend pas naissance au contact des liquides intestinaux chez l'animal. Nous nous sommes assuré, à une autopsie, pratiquée moins d'une heure après la mort (5), qu'il n'en

(1) N. JUVALTA : *Ist der Benzolkern im Thierkörper zerstörbar?* Zeitschr. f. physiol. Chem., 13, 26, 1888.

(2) U. MOSSO : *Quantitative Untersuchungen über die Ausscheidung der Salizylsäure und der Umwandlungsprodukte des Benzylamins aus dem tierischen Organismus.* Archiv f. exp. Pathol., 26, 267, 1890.

(3) E. PŘIBRAM : *Zur Lehre von den physiologischen Wirkungen karbozyklischer Säuren.* Archiv f. exp. Path., 51, 372, 1904.

(4) Ce n'est que dans le cas du *diphényléther de l'acide phtalique* $C^6H^4<^{COO.C^6H^5}_{COO.C^6H^5}$ (*phtalol*, introduit par Marfori et Giusti dans la thérapeutique), que l'acide phtalique inclus se décomposerait dans l'organisme en donnant de l'acide oxalique. Voir SIGMUND FRÆNKEL : *Die Arzneimittel-Synthese auf Grundlage der Beziehungen zwischen chemischem Aufbau und Wirkung.* Verlag Julius Springer, Berlin, 1907.

(5) Il est vrai qu'après la mort certains viscères prennent rapidement une réaction acide, alors qu'ils avaient une réaction alcaline pendant la vie. Il en est ainsi pour le foie et la rate, ainsi que l'ont démontré BRISSEMORET et AMBARD (*De l'acidification de certains*

était pas autrement chez l'homme. Les faits d'observation ne vérifient donc pas le principe de la théorie de de Vamossy, qui en conséquence ne nous paraît pas admissible.

Peut-être cependant pourrait-elle être acceptable, modifiée de la façon suivante. Ou bien le sel soluble peu diffusible qui prendrait naissance dans l'intestin serait un autre sel que le chromosel, un sel incolore, dont la présence par conséquent ne pourrait être mise en évidence que par des recherches chimiques compliquées; ou bien c'est la phénolphtaléine en nature, dissoute à la faveur de l'action des sucs intestinaux, qui représenterait elle-même le composé peu diffusible élevant la tension osmotique. Pour vérifier cette nouvelle théorie il y aurait lieu de refaire les expériences de de Vamossy sur la vessie ou les fragments d'intestin, non plus avec la solution de chromosel artificiellement préparée, mais, avec un mélange de sucs intestinaux (suc entérique proprement dit, suc pancréatique, bile) et de phtaléine en nature. Ces expériences devraient être faites comparativement avec les liquides intestinaux de l'homme et avec ceux des animaux pour voir si elles peuvent expliquer la différence d'action dans les deux groupes. Il y aurait de plus grand intérêt à les faire non plus sur des fragments d'intestin excisés, mais sur des anses intestinales simplement isolées du reste de l'intestin par compression ou ligature, avec conservation de leurs connexions nerveuses et vasculaires.

Étant données les grandes difficultés, sinon l'impossibilité, qu'il y a à faire ce genre de recherches sur l'homme, et d'autre part le peu de signification qu'elles auraient si elles étaient réalisées simplement chez l'animal, je me suis abstenu jusqu'aujourd'hui de les entreprendre. Elles ne seraient guère utiles à être tentées que si l'on pouvait opérer sur des anses intestinales saines recueillies peu de temps après la mort et soumises peut-être à l'irrigation, par une artère mésentérique, d'un liquide nutritif (sang ou sérum artificiel) approprié.

Recherches personnelles sur le mode d'action de la phtaléine et du sodophtalyl. — J'ai néanmoins fait une série de recherches en suivant un plan différent.

Disons d'abord que, chez l'animal, l'emploi de très fortes doses de phtaléine a provoqué quelquefois des évacuations alvines assez abon-

---

viscères et spécialement de celle du foie et de la rate considérée comme signe certain de la mort. C. R. Soc. Biol., 26 nov. 1904, LVII, p. 456). Ces auteurs ont pu retrouver dans ces organes la réaction acide déjà une demi heure après la mort et l'attribuent, avec MAGNUS LEVY, à l'autolyse de l'organe et non aux agents microbiens.

Nous ne pouvons dire actuellement dans quelle mesure ces conclusions sont applicables à d'autres organes, comme l'intestin dans le cas particulier. Quoiqu'il en soit, notre observation nous paraît devoir conserver ici sa valeur, car la réaction du contenu intestinal était encore faiblement, mais nettement alcaline au papier tournesol.

dantes; mais cet effet ne peut s'obtenir en général qu'avec des doses extraordinairement élevées (plusieurs grammes par kilogramme).

Recherches d'une action sur le péristaltisme. — Je me suis d'abord assuré que l'effet purgatif ne pouvait pas relever d'une action excitante sur les muscles intestinaux. A priori déjà on doit rejeter l'hypothèse d'une pareille action; l'absence de coliques en effet et surtout la grande masse de liquide éliminée dans les selles font tout de suite penser à l'existence d'un mécanisme excito-sécrétoire.

Des preuves plus directes sont fournies par l'action de la phtaléine sur des fragments d'intestin plongés comparativement dans des solutions nutritives appropriées et dans les mêmes solutions additionnées de phtaléine; ces dernières étaient soit saturées de phtaléine en poudre, soit additionnées de phtaléine en solution dans du sérum sanguin; dans ce dernier cas, le liquide nutritif témoin contenait la même quantité de sérum normal pour éviter toute modification due à l'action du sérum lui même. La solution nutritive employée pour ces expériences était celle dont nous avons déjà donné la formule avec M. HÉDON (1) et qui répond à la composition suivante : NaCl 6; KCl 0,3; $CaCl^2$ 0,1; SO^4Mg 0,3; PO^4HNa^2 0,5; CO^3NaH 1,5; glucose 1; eau distillée q. s. pour 1000 c.c.; oxygène à saturation. Or les mouvements d'une anse intestinale de lapin diminuent d'intensité ou même s'arrêtent complètement si on change cette anse de la solution nutritive dans la même solution additionnée d'une faible proportion de phtaléine; il en est de même si on ajoute la phtaléine (dissoute dans du sérum sanguin) à une anse intestinale qui se contracte dans un milieu convenable.

Même résultat négatif encore en se servant de la méthode des circulations artificielles par l'artère mésentérique sur une anse intestinale de chien.

Dans une expérience, faite sur un fragment d'intestin grêle excisé chez l'homme au cours d'une opération chirurgicale (néoplasme), la même action inhibitrice s'est manifestée.

Sur l'animal entier, la phénolphtaléine administrée dans les conditions les plus diverses ne nous a pas permis non plus de mettre en évidence une action nette sur le péristaltisme intestinal.

Le mécanisme de l'action purgative de la phtaléine ne relève donc pas d'une action excito-motrice directe sur l'intestin.

Mode d'action excito-sécrétoire. — J'ai recherché alors, chez le chien

(1) E. HÉDON et C. FLEIG : *Action des sérums artificiels et du sérum sanguin sur le fonctionnement des organes isolés des mammifères.* Arch. internat. de physiol., 1905. III, 95-126.

et chez le lapin, l'effet qu'elle pourrait exercer sur les sécrétions digestives. Après avoir fait chez ces animaux diverses fistules (biliaire, pancréatique, intestinale), on injectait la phtaléine soit dans le duodéno-jejunum en suspension dans de l'eau ou dans du sérum sanguin, soit sous la peau ou dans une veine en solution alcoolique ou en suspension hydro-alcoolique. Chez le lapin ces injections, même à doses très massives, n'ont pas provoqué d'augmentation appréciable des sécrétions. Chez le chien, quoique de façon inconstante, j'ai pu observer, à la suite de l'injection intraveineuse, une *faible augmentation des sécrétions biliaire, pancréatique et intestinale;* l'injection intra-duodénale n'a jamais eu aucun effet sur le pancréas ou le foie, elle a seulement augmenté parfois la quantité de liquide contenue dans l'anse injectée ou dans une anse voisine.

Expérience. — Chien 15 k., chloralosé à 0,08 gr. par k.; fistule du canal de Wirsung et du cholédoque, avec ligature du canal cystique.

On isole une anse de jéjunum entre deux ligatures peu serrées et on la lave avec de l'eau salée tiède. On la vide ensuite par expression.

On injecte dans l'anse 25 c.c. d'un mélange à 50 °/o de sérum sanguin et d'eau salée, contenant en suspension 5 grammes de phénolphtaléine. Au bout de 30' il ne s'est encore produit aucune modification dans les sécrétions pancréatique et biliaire.

Une heure après l'injection, on retire la totalité du liquide de l'anse, qui se trouve égale à 32 c.c. Une anse voisine contient aussi une quantité assez notable de liquide. Il y a donc eu une *faible sécrétion intestinale.*

On injecte alors lentement dans la saphène 1 gramme de phtaléine en suspension dans une solution hydro-alcoolique : au bout de 10' après l'injection, on constate une *augmentation des sécrétions du foie et du pancréas,* qui se maintient pendant la durée de l'expérience (2 heures environ). A la fin de l'expérience, on trouve dans l'anse isolée 12 c.c. de liquide.

Dans cette expérience, *l'injection de phtaléine dans l'intestin a donc produit un faible effet excito-sécrétoire sur l'intestin et l'injection intra-veineuse un faible effet excito-sécrétoire sur le foie, le pancréas et l'intestin.*

(On retrouve la phtaléine par addition de soude dans le suc pancréatique et dans la bile.)

S'il est permis de tirer de ces expériences une conclusion applicable à l'homme, chez qui l'effet purgatif est infiniment plus actif que chez l'animal, on peut dire que chez l'homme la phtaléine doit agir par excitation des sécrétion du foie et du pancréas *et surtout de l'intestin.* Quant au mécanisme intime de l'action sur le foie et le pancréas, il nous est impossible d'étudier expérimentalement s'il est de nature réflexe ou humorale, comme il est facile de le faire pour des excitants qui ont une action intense sur la sécrétion de ces glandes. L'action excito-sécrétoire sur l'intestin nous paraît être surtout directe mais partiellement aussi réflexe, puisque l'introduction de phtaléine dans une anse peut être capable de produire aussi une faible sécrétion dans une anse voisine.

L'action réflexe elle-même peut être double, à effet local et à effet plus ou moins éloigné du lieu d'excitation.

On ne peut guère donner comme preuve en faveur de la possibilité de cette action réflexe la production de l'effet purgatif par injection de phtaléine sous-cutanée ou intraveineuse, que nous avons obtenu une fois chez l'homme et quelquefois chez les animaux, chez ceux-ci à la suite de l'emploi de très fortes doses. Dans ce cas la phtaléine peut agir aussi bien par excitation directe de l'intestin que par action réflexe; nous avons vu en effet qu'elle peut s'éliminer au niveau de l'intestin lorsqu'elle est injectée sous la peau ou dans le sang. Il est possible cependant qu'intervienne alors un mécanisme nerveux, mais nous n'avons pour le démontrer aucune preuve directe.

Bien qu'une action de la phénolphtaléine sur le foie soit possible chez l'homme, elle ne paraît cependant pas nécessaire à la production de l'effet purgatif : Tunnicliffe cite en effet deux cas d'ictère chez des enfants dans lesquels l'emploi de la phtaléine produisit l'effet purgatif habituel sans ramener aucunement la coloration normale des selles, c'est-à-dire donc sans l'intervention d'une hypersécrétion biliaire.

Dans la thèse de Vivien sont rapportées des observations analogues.

Quoi qu'il en soit, un fait reste certain, c'est que la phénolphtaléine est un purgatif qui n'a pas d'action excitatrice notable sur la musculature intestinale; *c'est un type très net d'agent excito-sécrétoire des glandes intestinales,* mais il est difficile de préciser l'analyse de son action vu le peu d'activité qu'il présente chez l'animal. Si les mouvements péristaltiques de l'intestin arrivent cependant à être exagérés, ce n'est que secondairement, sous l'influence de l'excitation mécanique produite par la grande masse de liquide sécrété. Il s'agit alors d'une *action secondaire,* en somme consécutive et non causale.

L'observation clinique permet de dire que la phtaléine produit l'évacuation de tout le tractus intestinal, aussi bien de l'intestin grêle que du gros intestin. Une faible dose, n'amenant par exemple qu'une ou deux selles, évacue surtout le contenu du gros intestin, mais une dose suffisante pour amener un effet purgatif vrai agit aussi sur l'intestin grêle, ainsi que le montre l'épreuve de la réaction de Gmelin faite sur les matières fécales; normalement le contenu du gros intestin ne contient que des produits de transformation de matières colorantes de la bile et ne donne donc pas la réaction de Gmelin, à l'inverse de celui de l'intestin grêle. Après l'administration de phtaléine au contraire, la réaction est positive dans les selles, ainsi que l'a montré Wenhardt, ce qui est nettement en faveur d'une hyperactivité sécrétoire au niveau de l'intestin grêle.

Effet purgatif avec le sodophtalyl. — Comparaison avec la phtaléine. — Les mêmes effets purgatifs qu'on observe avec la phtaléine peuvent

s'obtenir encore avec le sodophtalyl et avec des doses moindres. Dans de très nombreux cas j'ai comparé, chez les mêmes individus, l'intensité de l'action des deux produits et, à doses égales, le sel de soude amène des évacuations plus abondantes; de plus la limite de la quantité minima nécessaire à produire un effet est plus basse pour le sel que pour la phtaléine en nature. Avec celle-ci il est rare que 0,10 gr. aient une action manifeste; au contraire, avec le sel, cette faible dose est souvent suffisante à amener une ou deux selles.

Pour obtenir l'effet purgatif avec le sodophtalyl, on peut administrer celui-ci en poudre sous forme de simples cachets; mais si l'on prend soin de l'enrober en capsules glutinisées ou kératinisées afin de ne permettre sa libération que dans le milieu intestinal, il agit toujours plus activement et à doses plus faibles.

Cette différence d'activité suivant le mode d'administration s'explique très bien si l'on songe que dans le milieu très acide de l'estomac, si le sel n'est pas enrobé sous enveloppe protectrice, il se décompose et la phtaléine en nature se précipite partiellement ou en totalité, suivant l'acidité du milieu et le temps de contact avec lui. Ce n'est plus alors le dérivé soluble qui va agir dans l'intestin, mais en partie ce dérivé et en partie la phtaléine libre. Cependant, même dans ce cas, l'effet de la phtaléine est plus intense que si cette substance est prescrite en nature sous forme de poudre, car l'état de division extrême sous lequel elle se trouve à la suite de sa récente précipitation dans l'estomac la met en contact immédiatement avec une plus grande surface de muqueuse intestinale et favorise beaucoup son action.

Quand c'est le dérivé soluble qui arrive lui-même en contact avec le contenu de l'intestin grêle, une faible partie est d'abord décomposée avec mise en liberté de phtaléine, mais il reste pendant longtemps un excès de sel soluble qui réalise une condition excellente pour obtenir l'efficacité maxima dans l'action purgative. Pour cette raison l'emploi du sodophtalyl nous paraît bien préférable à celui de la phénolphtaléine en nature.

Action purgative du sodophtalyl en injection sous-cutanée. — Un argument de grosse importance milite encore en faveur de l'emploi de ce dérivé; c'est l'action purgative facile qu'il manifeste à la suite de son injection sous la peau. L'injection sous-cutanée de 0,15 gr. à 0,30 gr. de sodophtalyl a une action purgative extrêmement intéressante, dont l'utilisation rendrait service dans de nombreux cas où il y a quelque inconvénient à donner une médication par la voie stomacale. Par cette voie d'administration d'ailleurs l'effet produit est moins brusque que par la voie gastrique et les selles sont facilement régularisées pendant plusieurs jours consécutifs. Les essais que nous avons entrepris à ce point

de vue ont été faits dans la clinique médicale du professeur CARRIEU et dans la clinique chirurgicale (gynécologique) du professeur DE ROUVILLE, ainsi que sur divers individus bien portants ou malades, dans des cas de constipation d'origine très variée. Les résultats sont extrêmement encourageants. (1)

Mode d'action excito-sécrétoire du sodophtalyl. — Le mode d'action du sodophtalyl est le même que celui de la phtaléine. J'ai fait avec ce sel des recherches analogues à celles qui ont été exposées plus haut pour la phtaléine. L'étude de l'action sur la motricité intestinale et sur les sécrétions digestives a donné les mêmes résultats que ceux déjà relatés en détail. Chez l'animal, on n'obtient que de faibles effets excito-sécrétoires sur le foie, le pancréas et l'intestin à la suite de l'injection intraduodénale ou intra-veineuse du sel; ces effets sont cependant moins difficiles à obtenir que dans le cas de la phtaléine.

Il est regrettable qu'une action, chez l'homme aussi intense, s'ébauche à peine chez l'animal et ne puisse conséquemment être étudiée à fond avec toute la précision scientifique de l'analyse expérimentale. Peut-être des recherches faites sur le singe seraient-elles plus fructueuses; il serait intéressant de le tenter.

Il y aurait surtout lieu d'étudier l'action de la phtaléine et de son chromosel dans certaines conditions expérimentales qui peuvent se réaliser accidentellement chez l'homme, de rechercher notamment l'effet de ces substances sur les sécrétions biliaire, pancréatique et intestinale dans certains cas de fistules traumatiques ou chirurgicales. Une pareille étude apporterait sûrement une importante contribution à la physiologie thérapeutique de ces intéressantes substances. Nous n'avons pas eu jusqu'ici l'occasion de l'entreprendre.

CHAPITRE V.

Effets secondaires de la phénolphtaléine et du sodophtalyl sur les diverses fonctions.

A la suite de l'emploi de doses thérapeutiques, les effets secondaires produits par la phénolphtaléine et le sodophtalyl sur les diverses fonctions et systèmes organiques sont nuls ou insignifiants et en tous cas ne sont jamais la manifestation d'une action nuisible ou toxique.

---

(1) Il est utile de souligner cette action purgative par voie hypodermique, attendu qu'AUGER, après avoir parlé de la phtaléine dans une conférence à la Société chimique de Paris (18 nov. 1902), termine en disant « que l'on recherche, sans succès jusqu'ici, un purgatif qui puisse agir par cette voie ».

Ces doses thérapeutiques n'influencent nullement les fonctions d'assimilation et de désassimilation ; elles ne modifient pas l'excrétion urinaire, à en juger par l'analyse des principaux composés.

Expérimentalement, à la suite de l'injection intra-veineuse de doses assez fortes de sodophtalyl (0,50 gr. à 3 gr. pour un lapin de poids moyen), la diurèse est ordinairement active et l'élimination du sel se fait, nous l'avons vu, avec la plus grande facilité.

Cliniquement la diurèse ne paraît pas être influencée, mais un fait indubitable, reconnu à l'unanimité par tous les auteurs qui ont fait usage de la phtaléine, c'est l'innocuité absolue de l'administration de cette substance dans les néphrites de diverse nature. Une longue expérience a déjà démontré que la phtaléine n'a ***aucune action irritante sur le rein malade,*** contrairement à ce qui a lieu pour de nombreux purgatifs végétaux (coloquinte et colocynthine, aloès, anthrapurpurine, etc., etc.). Dès 1902, TUNNICLIFFE cite deux cas d'albuminurie dans lesquels l'albumine n'a nullement augmenté à la suite de l'ingestion de phtaléine. De nombreux auteurs arrivent aux mêmes conclusions : UNTERBERG (1), MENDELSOHN, MONCORVO FILHO, BLUM (2), L. MUNK et bien d'autres encore ont affirmé que la phénolphtaléine n'avait pas la moindre action nocive dans les affections rénales et vésicales de diverse nature. Notre expérience ne fait que confirmer ces conclusions, qui s'appliquent aussi bien au sel de la phtaléine qu'à la phtaléine elle-même.

L'emploi des purgatifs comme hypotenseurs dans les cas d'hémoptysie ou d'hémorragie cérébrale a amené TUNNICLIFFE à rechercher l'effet de l'administration de phtaléine sur la pression sanguine : il s'agit d'observations cliniques, faites avec le sphygmomanomètre de Mosso. L'auteur a constaté ainsi une certaine action hypotensive, mais qui est loin d'être égale à celle que produit le sulfate de magnésie. La phtaléine est donc peu utilisable dans les cas où l'on cherche à obtenir comme effet secondaire une action dépressive sur la circulation, mais s'adapte tout à fait au contraire aux cas où l'on veut éviter cet effet, en particulier dans les maladies du cœur avec dégénérescence du myocarde.

La phtaléine et le sodophtalyl n'ont pas expérimentalement d'action spécifique sur la pression sanguine.

Quoi qu'il en soit à ce point de vue, ce que nous venons de dire montre que la phtaléine peut être employée sans crainte chez les cardiaques ; les observations des divers auteurs le démontrent d'une façon évidente.

---

(1) EUGEN UNTERBERG : *Beiträge zur abführenden Wirkung des Purgens.* Therapie der Gegenwart, mai 1902, p. 203-205.

(2) BLUM : Thér. Mon., 1904 (cité in L. MUNK).

Ajoutons enfin que certains états physiologiques spéciaux, tels que les périodes menstruelles, la grossesse, la ménopause ne sont nullement influencés par l'administration de la phtaléine en nature ou de son dérivé soluble, alors que la plupart des purgatifs sont à redouter. Dans la grossesse en particulier, la phtaléine a été employée par plusieurs auteurs et les résultats ont été remarquablement satisfaisants. Avec le sodophtalyl, nous n'avons jamais observé la moindre manifestation qui soit à son désavantage.

CHAPITRE VI.

Utilisation thérapeutique de la phénolphtaléine et du sodophtalyl.

Indications.

Tout ce que nous venons de dire sur les effets produits dans l'organisme par la phtaléine et son sel permet de conclure que ces deux agents thérapeutiques ont comme purgatifs de très nombreuses indications et jamais de contre-indications absolues.

Bien que leur action réside essentiellement dans un mécanisme excito-sécrétoire, ils peuvent être utilisés cependant avec succès dans la plupart des cas de constipation, même lorsque celle-ci relève d'une parésie de la musculature et non d'une insuffisance sécrétoire. L'afflux de liquide dans l'intestin est en effet tellement considérable sous l'influence de la phtaléine et surtout de son sel qu'il exerce secondairement une action d'excitation *mécanique* sur les muscles parésiés et provoque leurs contractions.

D'après les très nombreuses observations répandues dans la littérature médicale étrangère ou française et d'après notre expérience personnelle, la phtaléine et son dérivé soluble peuvent rendre de grands services dans les cas de constipation de diverse nature, chez les individus sains ou malades, et de tout âge, depuis les nourrissons jusqu'aux vieillards. Dans la constipation habituelle, dans les constipations qui suivent la fièvre typhoïde ou accompagnent les diverses affections digestives, ulcères de l'estomac, etc. etc., les résultats sont excellents. Au cours de certaines affections chirurgicales (appendicite, etc.) et surtout gynécologiques (fibromes, salpingites, kyste de l'ovaire, etc.) où la paresse intestinale est fréquente, il en est de même. Il y a lieu d'insister sur les résultats obtenus avec ces purgatifs dans l'appendicite suraiguë et la colique saturnine, c'est-à-dire dans des cas où la plupart des indications exonérantes sont à écarter à cause des coliques et des douleurs qu'elles provoquent. Les hémorrhoïdaires qui ne peuvent être purgés avec les drastiques, se trouvent très bien de la phtaléine. Les lésions cardiaques

et rénales, nous l'avons dit, ne sont nullement une contre-indication. ***Pendant la grossesse même la phtaléine et son dérivé nous paraissent être les purgatifs de choix, étant donné leur innocuité absolue sur le rein et la facilité avec laquelle ils sont supportés.***

Chez les enfants ils sont aussi parfaitement indiqués, alors que la plupart des purgatifs sont difficiles à manier et souvent dangereux. Chez eux, ils sont particulièrement efficaces dans toutes les dyspepsies intestinales (gastro-entérites), si fréquentes, qui finissent par entraîner l'athrepsie.

Ces purgatifs peuvent encore être donnés pour atténuer l'effet sur le tube digestif de certaines médications telles que le fer, les opiacés, etc.

Mode d'administration et posologie de la phtaléine et du sodophtalyl. — La phénolphtaléine peut être administrée sous forme de cachets ou de comprimés.

Comme elle n'est soluble en quantité suffisante que dans l'alcool fort, on ne peut pas songer à la faire ingérer en liqueur alcoolique. On pourrait cependant la donner en suspension dans une potion gommeuse.

Chez l'adulte, la dose à administrer varie naturellement suivant les susceptibilités individuelles en relation avec les habitudes intestinales antérieures; elle doit être en particulier plus élevée chez les malades alités ou les individus sédentaires que chez ceux qui se lèvent et vaquent à leurs occupations ou se livrent à un exercice physique modéré. Il en est de même souvent chez les individus de gros poids qui exigent des doses plus fortes que les sujets jeunes, faibles, amaigris; de même encore chez les neurasthéniques, dans les cas d'entéroptose en général ou de réplétion exagérée de l'intestin, chez les végétariens ou après l'abus des drastiques.

Suivant l'effet qu'on veut obtenir, laxatif ou purgatif, ces doses varient de 0,15 à 0,30-0,40 gr. et bien au delà. Chez un individu qui est levé, une dose de 0,15 gr. de phtaléine provoque une ou deux selles molles, une dose plus élevée un effet purgatif intense. Chez un malade alité, on obtient rarement un effet au-dessous de 0,20 à 0,30 gr. Lorsqu'on a à agir chez des individus en traitement opiacé, il faut des doses naturellement plus élevées.

En tout cas, on peut sans danger aucun porter très haut les doses (plusieurs grammes), puisque le produit n'est pas toxique. Nous l'avons fait dans plusieurs cas.

Chez les enfants, cinq centigrammes suffisent habituellement. Chez des nourissons âgés de quelques jours, on peut donner deux à trois centigrammes. Il est fort probable d'ailleurs qu'on pourrait sans inconvénient administrer des doses plus élevées.

La même posologie peut s'appliquer au sodophtalyl, qui peut se donner sous forme de poudre, en cachets, ou mieux sous enveloppe glutinisée ou kératinisée; mais on n'a aucun intérêt à donner tout à fait les mêmes doses, puisque des doses plus faibles agissent aussi bien.

Tandis par exemple que pour avoir avec la phtaléine un effet purgatif net chez un adulte, il faut 0,30 gr., il suffit en général de 0,20 gr. de sodophtalyl pour obtenir le même effet, c'est-à-dire d'une dose d'un tiers moins élevée.

Bien que ce sel soit soluble dans l'eau et dans l'alcool, il est difficile à administrer en solution, l'amertume de son goût étant extrêmement marquée.

Pour avoir un effet purgatif en injection sous-cutanée, on utilise une solution de sodophtalyl à 3 % dans l'eau salée, à la dose de 0,20 gr. à 0,30 gr. On peut d'ailleurs injecter des doses infiniment plus élevées.

Un point particulièrement remarquable dans l'action de la phtaléine et surtout de son dérivé soluble, c'est que l'effet ne cesse pas à la suite de l'utilisation prolongée; l'accoutumance se fait beaucoup moins facilement qu'avec les autres purgatifs et la médication peut être employée indéfiniment tous les deux ou trois jours, sans qu'on soit obligé par la suite d'élever les doses. Ce n'est point ici seulement notre opinion personnelle, mais celle aussi de plusieurs auteurs, en particulier de Unterberg qui a pu administrer la phtaléine pendant deux mois sans être obligé d'élever jamais la dose.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS.

A. — Recherche d'une action toxique de la phénolphtaléine et du sodophtalyl.

La phénolphtaléine et le sodophtalyl n'ont pas de caractère toxique. Les animaux de laboratoire supportent très bien par la voie gastrique des doses de plusieurs grammes par kilogramme et par voie intra-veineuse 0,50 gr. à 1 gramme; ces doses mêmes ne provoquent chez eux que très difficilement la diarrhée.

Il n'y a pas d'intoxication chronique, à la suite de l'administration de doses répétées.

Chez l'homme adulte et chez l'enfant, plusieurs grammes sont aussi très bien supportés.

B. — Absorption, transformations dans l'organisme et élimination.

La plus grande partie de la phénolphtaléine donnée par la voie gastrique passe en nature dans les fèces (85 %). Ce n'est en général qu'à la suite de l'ingestion de fortes doses qu'elle peut passer dans l'urine où

on la décèle par addition de soude; elle provoque alors le plus souvent une augmentation du taux des dérivés sulfo-conjugués. Si au contraire elle est injectée sous la peau ou dans le sang, son élimination par l'urine est beaucoup plus active et l'augmentation des sulfo-conjugués plus élevée.

Le sodophtalyl en ingestion chez l'homme à la dose de 0,20 gr. à 0,40 gr. ne donne que rarement la réaction de la phtaléine dans l'urine; mais s'il est ingéré à plus forte dose ou injecté (chez l'homme ou chez l'animal) il est absorbé dans de plus grandes proportions que la phtaléine, éliminé plus rapidement et provoque plus facilement l'augmentation des dérivés sulfo-conjugués.

A la suite de l'injection sous-cutanée ou intra-veineuse du sodophtalyl chez les animaux, on obtient la réaction de la phtaléine dans divers produits de sécrétion. tels que la salive, la bile, le suc pancréatique, le suc intestinal, les larmes.

L'urine et la bile ont une action solubilisante sur la phtaléine très divisée, — action solubilisante vraie, sans modification chimique, ou action de transformation en un dérivé soluble qui donnerait la réaction de la phtaléine par addition de soude. Ces liquides, chez les animaux soumis à des injections intra-veineuses de doses assez fortes de sodophtalyl, contiendraient la phtaléine sous deux états possibles : *a*/ ou partiellement en nature et partiellement sous la forme de dérivés solubles incolores, mais donnant la réaction de la phtaléine par addition de soude; *b*/ ou totalement sous forme de ces dérivés solubles.

Ces dérivés pourraient être des composés résultant de la combinaison de la phtaléine avec une base organique (amine, base xanthique ou créatinique) ou plus vraisemblablement des dérivés sulfo-conjugués, par exemple à l'état de *phénolphtaléine sulfo-conjuguée,* pouvant répondre entre autres à la formule

```
                          M
                           \
                C6H4 ---- SO4
               /
              C
             / \
            /   C6H4 ---- SO4
    C6H4 <      > O           /
            \  /            M
             CO
```

Chez le chien à la suite de l'*ingestion* de doses élevées de sodophtalyl, la phénolphtaléine semble pouvoir s'éliminer pour une faible part à l'état de composé *glycuro-conjugué.*

Divers organes ou liquides organiques, tels que le foie, le rein, la muqueuse intestinale, le sang et même les microbes et les sucs du

contenu intestinal ne scindent pas la phénolphtaléine en ses composants, phénol et acide phtalique.

Certaines bases organiques telles que la xanthine, la créatine, la créatinine, etc., exercent sur la phénolphtaléine une action solubilisante, qui peut expliquer comment la phtaléine ou ses dérivés peuvent se trouver en assez grande quantité dans l'urine.

La phtaléine peut se retrouver nettement dans le sang si elle a été donnée en nature ou sous forme de dérivé soluble, par une voie appropriée. Le sérum sanguin peut la solubiliser dans de grandes proportions, et comme dans l'urine elle existe, sinon en totalité, du moins partiellement sous forme de dérivé soluble, il est fort probable qu'il en est de même dans le sang, à moins d'admettre, ce qui est peu vraisemblable, que la transformation en dérivé soluble soit localisée au niveau du rein. Elle se trouverait donc dans le sang non seulement solubilisée, mais probablement chimiquement modifiée.

La réaction des liquides organiques à la phénolphtaléine n'est pas alcaline, sauf pour le suc pancréatique et la bile, où elle l'est très légèrement. Le chromosel ne peut donc pas prendre naissance à la suite de l'ingestion de phtaléine en nature.

C. — Action purgative. — Mécanisme de cette action.

Chez l'homme, la phénolphtaléine et le sodophtalyl exercent une action purgative extrêmement marquée. Chez l'animal cette action ne se manifeste que très difficilement et à la suite de l'emploi de doses très fortes.

Ces substances n'ont aucun effet irritant sur les muqueuses du tube digestif, ne provoquent, même prises en grande quantité, ni coliques, ni ténesme et n'entraînent que très rarement l'accoutumance et dans de très faibles limites.

La théorie de MARTINET ramenant l'action purgative de la phénolphtaléine à une action de l'acide oxalique qui proviendrait de l'oxydation du noyau phtalique de la phénolphtaléine dédoublée dans la cavité intestinale est anti-physiologique.

Pour ZOLTÁN DE VÁMOSSY, la phénolphtaléine agirait par suite de sa transformation dans l'intestin en chromosel soluble, dont le pouvoir de diffusion extrêmement faible provoquerait dans la cavité intestinale l'attraction de grandes masses de liquide. Chez l'animal le manque d'action purgative s'expliquerait par l'absence de cette transformation.

Cette théorie est peu admissible, car le chromosel, même chez l'homme, ne prend pas naissance au contact des liquides intestinaux. Elle serait peut être acceptable si on accordait le faible pouvoir de diffusion à la phtaléine elle-même, dissoute pour une part à la faveur du suc intestinal.

D'après les nombreux résultats de l'observation *clinique* et *expérimentale*, la phtaléine n'agit pas en excitant directement le péristaltisme intestinal (recherche d'une action sur l'intestin séparé du corps et chez l'animal entier).

Expérimentalement, l'injection de phtaléine dans le duodéno-jéjunum peut produire un effet excito-secrétoire sur l'intestin et l'injection intraveineuse un effet analogue sur le foie, le pancréas et l'intestin. Chez l'homme la phtaléine doit donc agir en provoquant l'hypersécrétion de ces glandes, en particulier de l'intestin par suite d'une *excitation surtout directe de la muqueuse intestinale*, peut être aussi partiellement réflexe.

Le sodophtalyl a la même action que la phtaléine, et à doses moindres, surtout si on l'administre sous forme de capsules glutinisées ou kératinisées. L'effet purgatif obtenu à la suite de son injection sous-cutanée est des plus intéressants et pourra être des plus précieux dans certains cas.

Le mode d'action du chromosel est le même que celui de la phtaléine.

D. — Effets secondaires sur les diverses fonctions.

Les doses thérapeutiques de phénolphtaléine et de sodophtalyl n'influent aucunement sur la nutrition générale. Elles n'ont absolument aucune action irritante sur le rein malade, ce qui fait de ces substances des purgatifs de choix chez les albuminuriques. Leur faible action hypotensive sur le système circulatoire permet de les employer sans crainte chez les cardiaques. Aucune influence nocive non plus dans les périodes menstruelles, la grossesse, la ménopause.

E. — Utilisation thérapeutique.

On peut dire que la phénolphtaléine et le sodophtalyl n'ont comme purgatifs aucune contre-indication absolue, puisqu'ils ne font pas redouter d'effets secondaires nocifs et qu'ils ne sont nullement toxiques.

Ils sont indiqués avant tout dans les constipations relevant d'une insuffisance sécrétoire, mais aussi dans celles qui sont liées à une asthénie de la musculature intestinale, l'excitation mécanique produite par l'afflux de la grande quantité de liquide étant très appropriée pour réveiller le péristaltisme.

Pour le sodophtalyl, l'hypersécrétion particulièrement intense qu'il provoque en fait un agent de *diurèse intestinale* qui pourra être précieux dans certains cas où la diurèse rénale est insuffisante; il sera alors d'autant plus indiqué qu'il n'a, nous venons de le dire, aucune action irritante sur le rein néphritique. Nous ne saurions trop insister sur

le caractère liquide des selles que fournit cette substance et cela indépendamment de toute ingestion supplémentaire de boissons. Si la dose est convenable, l'abondance de la débâcle liquide rend l'effet produit assimilable à une sorte de *saignée séreuse* et c'est un véritable *lavage intestinal* qui réalise à la fois l'exonération des produits toxiques d'origine tissulaire proprement dite et d'origine gastro-intestinale.

On peut avoir ainsi dans des cas d'urémie, d'éclampsie ou d'intoxication en général, un adjuvant puissamment efficace du traitement habituel, sans qu'on ait à redouter une irritation quelconque des voies digestives.

La phénolphtaléine s'administre sous forme de comprimés ou de cachets, chez l'adulte aux doses de 0,15 gr. à 0,40 gr. et bien au-delà, chez l'enfant à la dose de 0,05 gr. à 0,15.

Le sodophtalyl peut se donner à doses plus faibles pour obtenir les mêmes effets. En injection sous-cutanée, les doses sont de 0,20 gr. à 0,30 gr. Ajoutons que nous l'avons quelquefois employé avec succès en suppositoires.

En somme la phénolphtaléine et le sodophtalyl soluble nous paraissent être deux importantes acquisitions nouvelles apportées dans le domaine de la médication cathartique, vu l'intensité et la nature spéciale de leur action, l'absence d'action toxique même avec l'emploi de doses bien supérieures aux doses thérapeutiques et l'absence d'effets secondaires susceptibles de restreindre le champ de leurs indications.

Bien que la liste des purgatifs que nous connaissons soit innombrable, peu cependant pourront leur être comparables. Ces mots, en apparence quelque peu enthousiastes, ne sont cependant que l'expression vraie des données établies.

Peut-être éveilleront-ils le scepticisme de quelques-uns, mais celui-ci cèdera certainement devant les résultats de l'expérience, s'il n'est point assez absolu pour ne pas la tenter.

C'est à dessein que dans ce mémoire nous avons insisté longuement sur certains points tels que le sort de la phtaléine et de son sel dans l'organisme; c'est là toute une étude qui ne devait être négligée dans aucun de ses détails, l'utilisation clinique ne devenant alors que plus rationnelle et plus sûre. Certaines conclusions d'ailleurs auxquelles nous sommes arrivé en cherchant à élucider divers points de cette étude spéciale pourraient peut-être ne pas rester sans importance thérapeutique: l'idée du mode d'élimination à l'état de composé sulfo-conjugué ne pourrait-elle pas conduire logiquement à l'essai d'un nouveau mode d'administration du noyau cathartique, sous la forme même de phénolphtaléine sulfo-conjuguée? Ce sera à de nouvelles recherches d'examiner si la préparation de ce composé est réalisable par le chimiste et si

son emploi ne serait pas thérapeutiquement préférable encore à la phtaléine et à son dérivé soluble. De même de vastes séries de travaux sont à entreprendre sur les diverses phtaléines et leurs nombreux dérivés que la chimie nous a fait connaître : la thérapeutique et la chimie pharmacodynamique pourront y puiser d'importantes acquisitions.

Istituto di Farmacologia della R. Università di Parma.

Azione farmacologica del solfo colloidale

del

Prof. L. SABBATANI.

I. — Soluzioni colloidali di solfo.

Il Dott. Raffo ha preparato recentimente nel Laboratorio del Prof. Pesci una nuova forma di solfo (1), colloidale, che presenta un particolare interesse per la chimica, in quanto si può dire sia l'unico metalloide colloidale bene studiato (2); per la farmacologia in quanto si può iniettare nelle vene, e fare così quello studio sull'azione generale del solfo, che prima d'ora riusciva difficile, per non dire impossibile; e probabilmente potrà offrire un particolare interesse anche per la terapia, in quanto è il preparato di solfo libero più delicato e di gran lunga più attivo di tutti gli altri oggi usati (3).

Per questo ho desiderato studiarlo farmacologicamente e ringrazio il Prof. Pesci ed il Dott. Raffo, che, accondiscendendo al mio desiderio,

---

(1) Raffo, M.: Zeitschrift für Chemie der Colloide, 1908.

(2) Abbeg, R.: Handbuch der Anorg. Chem. Bd. III (1907). 389. Accenna all'esistenza di fosforo colloidale.

(3) Fino ad oggi si può dire che non conosciamo ancora nulla circa l'azione farmacologica del solfo colloidale Bory (Compt. rend. de la Soc. de Biol., 63 (1907) 512-514) adopera una preparazione (sospensione) di solfo in glicerina e trova che è innoma nelle cavie per via ipodermica Delehaye (Ivi 63 (1907) 601) sperimenta una soluzione (?) oleosa di solfo. Fleig (Ivi 63 (1907) 625-627) sperimenta per via endovenosa il solfo precipitato ordinario, il solfo colloidale ottenuto col metodo. De Bruyn in presenza di gelatina; non dice però nulla dei sintomi che simili iniezioni producono; pensa anche si possa sperimentare il solfo nascente iniettando del polisolfuro di sodio, ma io non potrei convenire nel suo pensiero. Maillard e Danlos (Ivi 63 (1907) 732) accennano a vari modi per ottenere solfo colloidale e dicono che stanno studiando. Fleig (Ivi 64 (1908) 221-223) critica giustamente diverse preparazioni di solfo così detto colloidale, riconosce che la migliore è quella ottenuta con acido solfidrico ed anidride solforosa e si propone di studiarla Per la bibliografia chimica del solfo colloidale oltre ai lavori che ho citati vedasi Debus. Ann. der Chem. 244 (1888) 76-189.

mi hanno date gentilmente quelle soluzioni di solfo colloidale che mi occorrevano.

Le soluzioni sono di un bel colore giallo di solfo, più o meno forte a seconda della concentrazione loro; sono del tutto inodore, e quando sono neutre e quasi del tutto pure, hanno un sapore astringente, al quale segue un odore solfidrico-solforoso. Si preparano decomponendo in determinate condizioni l'iposolfito di sodio con dell' acido solforico; per questo contengono sempre del solfato di sodio che può essere ridotto a quantità piccolissime, ma non può mai essere allontanato del tutto, perchè la sua presenza è indispensabile alla stabilità della soluzione colloidale, la quale diventa tanto più labile quanto più si tenta di purificarla o colla dialisi o con altri mezzi dalle ultime traccie di solfato.

Analogamente a quello che avviene degli altri colloidi, anche questo solfo colloidale si può avere nelle due forme : idrosolica ed idrogelica; la prima, sciolta, si ottiene e si conserva discretamente bene in presenza di solfato sodico, la seconda, precipitata (da distinguere bene dal così detto solfo precipitato o magistero di solfo), può ridisciogliersi ancora, purchè si operi abbastanza presto. Le due forme, sciolta e precipitata, sono quindi reversibili; ma se si lascia questo solfo colloidale un po' a lungo allo stato idrogelico, non si ridiscioglie più, perchè lentamente passa prima ad uno stato amorfo, insolubile, poi ad uno stato cristallino, costituito da una miscela delle due forme note, del solfo rombico e monoclino.

Per questo non mi sono preoccupato tanto di avere delle soluzioni molto pure, cioè molto povere di solfato sodico; ma piuttosto delle soluzioni colloidali stabili, che mi permettessero di eseguire bene gli esperimenti farmacologici e di riferirne sicuramente i risultati alla forma idrosolica del solfo colloidale. Del resto la presenza di piccole quantità di solfato sodico non è di alcun danno nelle esperienze farmacologiche, neppure quando si tratta di iniezioni endovenose (1); tende anzi a mantenere un po' alta la tonicità della soluzione, la quale altrimenti sarebbe pressochè zero, e ad evitare dei fatti di tossicità dipendenti da ipotonia.

Le soluzioni che mi occorrevano erano preparate apposta di volta in volta dal Dott. Raffo, e da lui stesso venivano titolate; tutte contenevano una quantità discreta e molto variabile di solfato, ma ciò non ostante alcune di esse intorbidarono prima o durante gli esperimenti; queste furono gettate, e non si tenne alcun conto delle esperienze fatte con esse. Quelle che mi diedero buoni risultati sono le seguenti :

(1) Adoperando una soluzione di $Na_2SO_4 + 10\ H_2O$ al 16 %, ad uccidere i conigli per iniezione endovenosa occorrono in media gr. 10.3 di sale per Kilo corporeo (Sabbatani, L. — Azione biologica del calcio — parte terza — azione comparata dei reattivi decalcificanti — Memorie della R. Acc. delle Sc. di Torino, Serie II, Tomo LIV (1904) 465).

TABELLA I^a. — Soluzioni di solfo colloidale.

Soluzione		% in gr.	
No	Data.	Solfo (S).	Solfato sodico (Na_2SO_4).
1	7-4-08	2.00	0.16
2	7-4-08	1.	1.26
4	13-4-08	1.09	5.48
7	15-4-08	0.97	5.70
8	16-4-08	1.36	0.74
10	26-4-08	0.84	9.30
11	26-4-08	0.92	9.10
12	27-4-08	1.37	10.44
13	27-4-08	1.15	0.64
14	29-4-08	1.49	10.10
15	29-4-08	1.66	0.74

Alcune volte le adoperava schiette, ma più spesso le diluiva al decimo con acqua distillata o con soluzione fisiologica, indicando quelle con : 1, 2, 3 ecc., e queste con 1/10, 2/10, 3/10 ecc.

Le soluzioni colloidali si preparano meglio a caldo che a freddo, e si conservano abbastanza bene in presenza di acidi (solforico, cloridrico); quando sono perfettamente neutre si conservano meno bene, e quando poi si rendono alcaline con alcali liberi o con carbonato di sodio, precipitano tosto. Ciò è di particolare interesse per le ricerche farmacologiche, perchè in tutto l'organismo, nei liquidi circolanti e nei protoplasmi abbiamo sempre un ambiente alcalino, sfavorevole a che il solfo possa conservare il suo stato idrosolico. Quando infatti si aggiunge al siero di sangue bruscamente una quantità un po' abbondante di una soluzione forte di questo solfo, tosto precipita; ma quando invece si aggiungono al siero delle piccole quantità di soluzioni diluite di solfo colloidale, questo non precipita, quantunque si trovi in un ambiente alcalino, ed il siero resta del tutto limpido; probabilmente ciò avviene per lo stesso fatto per il quale De Bruyn (1) facendo reagire l'iposolfito sodico con un acido in

(1) De Bruyn Lobry C. A.: *Unlösliche anorganische Körper in colloïdaler Lösung.* Ber. d. deutsch. chem. Gesel. 35 (1902) 3097-3082.

presenza di zucchero di canna o di gelatina, ha visto ritardare tanto la precipitazione del solfo, che ha potuto considerare questo come un mezzo per ottenere del solfo colloidale [1]. Poichè adunque piccole quantità di solfo colloidale conservano il loro stato fisico anche in un ambiente alcalino, quale è il siero di sangue, e poichè, come vedremo, sono piccolissime le quantità di esso sufficienti a dare le azioni farmacologiche massime per via endovenosa, così non c'è alcun dubbio sul significato preciso che hanno le presenti esperienze.

Adoperava del solfo colloidale, lo iniettava in forma idrosolica, e tale poteva restare sicuramente nel plasma sanguigno, almeno per quel tempo brevissimo e per quelle dosi minime che erano sufficienti ad ottenere le azioni farmacologiche massime.

II. — Solfo colloidale per via endovenosa.

Quando si inietta nella giugulare dei conigli della soluzione diluita di solfo colloidale, e si inietta piuttosto lentamente, come ad esempio nell'esperienza 2ª (Vedi Tabella IIª) si osserva innanzi tutto un rallentamento fortissimo del cuore; in seguito l'animale si mostra agitato, ha reflessi esagerati, e presenta poi forti convulsioni generali; a queste segue in ultimo paralisi completa, scomparsa dei reflessi ed arresto del respiro. Il cuore invece continua a pulsare ancora per molto tempo e validamente, sì che mantiene a lungo abbastanza elevata la pressione arteriosa.

Queste successioni di fatti nel coniglio si possono seguire molto bene, esaminando il tracciato preso col manometro a mercurio dalla carotide, mentre si inietta nella giugulare la soluzione di solfo colloidale; non abbiamo quindi bisogno di insistere su di esse.

---

(1) Non c'è bisogno di far notare la diversità grande che passa fra il solfo colloidale ottenuto in questo modo e quello preparato da RAFFO. DE BRUYN in fondo rende semplicemente più evidente un fatto già noto, che cioè dalla reazione fra acido ed iposolfito il solfo si separa dapprima colloidale, e tale resta per alcuni minuti nelle soluzioni molto diluite (HOLLEMAN, Trattato di chimica inorganica, traduzione italiana, Soc. Edit. Libr., Milano 1906, p. 116).

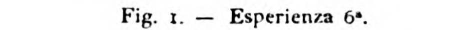
Le soluzioni di DE BRUYN con zucchero o gelatina, che hanno un forte attrito interno, verosimilmente ostacolano quei movimenti molecolari che sono indispensabili perchè il solfo, separatosi dapprima in uno stato di estrema suddivisione, invisibile e colloidale, possa formare aggregati molecolari più grossi, visibili, di solfo che precipita.

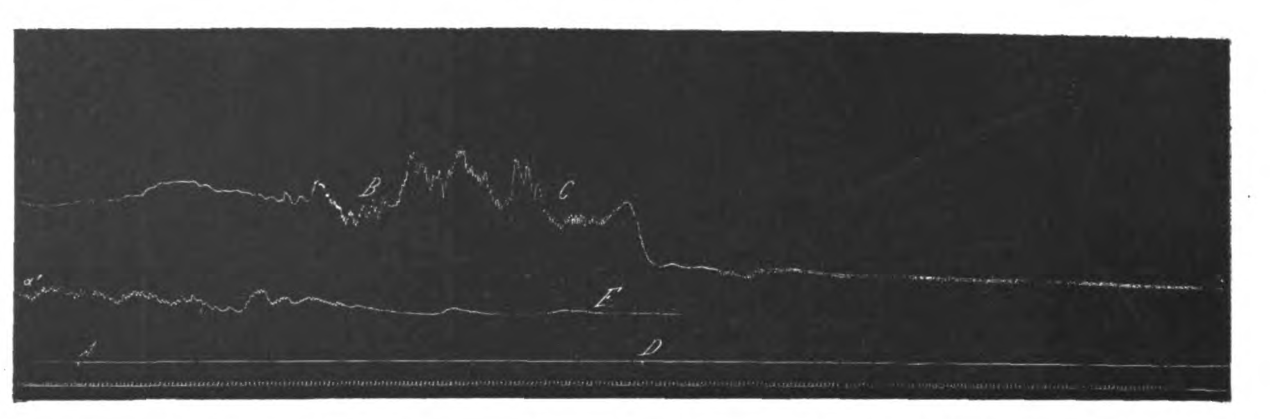
Probabilmente a questo processo di DE BRUYN si collega quello per il quale la CHEM FABRIK VON HEYDEN AKT.-GES. ottiene un preparato di solfo colloidale in presenza d'albumina (Chem Centralb. 1905, II, 1752).

A proposito dei vari modi fino ad ora descritti per ottenere del solfo colloidale, ricorderò ancora che SOEDBERG, F. (*Ueber die elektrische Darstellung colloidaler Losungen*, Ber. 39 (1906) 1705-1711) dice di avere ottenuto con metodo elettrico del solfo colloidale in alcool isoamilico.

TABELLA IIa. — Solfo colloidale per via endovenosa nei conigli.

Esperienza.			Iniezione di				L'animale muore con		
N° *a*	Data *b*	Coniglio di kgr. *c*	Soluzione di solfo. *d*	S °/o. *e*	Cm³. *f*	in minuti primi. *g*	S iniettato in gr. *h*	S iniettato in gr. per kilo. *i*	S iniettato in gr. per kilo e minuti. *k*
1	7-4-08	1.330	1	2.60	0.5	1'	0.0130	0.0097	0.0097
2	7-4-88	1.300	1/10	0.26	3.3	2'	0.0085	0.0066	0.0033
3	7-4-08	1.125	1/10	0.26	6.1	7'	0.0158	0.0140	0.0020
5	13-4-08	1.430	4/10	0.11	26.7	22'	0.0291	0.0203	0.0009
6	16-4-08	1.250	8/10	0.13	6.	2'.11"	0.0081	0.0065	0.0030


Fig. 1. — Esperienza 6ª.



Tracciato manometrico dalla carotide destra di un coniglio di kg 1.250. Iniezione di solfo colloidale, sol. 8/10, al 0.136 °/o, fatta con velocità costante in 2' 11'' In A comincia l'iniezione, in B cominciano scosse convulsive, in C cessano le convulsioni ed il respiro s'arresta, in D termina l'iniezione (il tracciato da α seguita in α'), in E si arresta il cuore.

La tossicità del solfo colloidale per iniezione endovenosa è molto grande, come si vede subito dalla colonna *i* della Tabella IIa. Pochi milligrammi per Kilo bastano a produrre la morte immediata dei conigli; non credo per altro sia lecito fissare con una media (che quì sarebbe di gr. 0.0114 per Kilo) la dose minima letale, perchè dal confronto delle colonne *i* e *k* si vede che la dose letale è strettissimamente legata alla velocità dell'iniezione (1).

L'effetto che si ottiene col solfo colloidale dipende, più che dalla quantità, dal modo con cui viene introdotto in circolo. La quantità necessaria e sufficiente ad uccidere il coniglio d'un chilo è tanto più grande quanto più lentamente viene iniettata; pare anzi che al disotto di una certa velocità d'iniezione il solfo diventi del tutto inattivo, od almeno l'animale ne possa tollerare senza danno alcuno delle dosi altissime. Questo concetto trova appoggio nella grande tolleranza che gli animali presentano al solfo colloidale, quando è introdotto per via gastrica.

III. — Solfo colloidale per via gastrica.

Quando si dà il solfo colloidale per bocca, si ottengono dei risultati molto diversi da quelli ora descritti per le iniezioni endovenose. Una prima differenza riguarda la tossicità, che è fortissima per via endovenosa, ed è invece debolissima per via gastrica; ed una seconda differenza, pure molto grande, riguarda gli effetti che si ottengono comparativamente nei cani e nei conigli.

Nei cani il solfo colloidale, introdotto nello stomaco colla sonda, non è mai pericoloso; dosi piccole fino a gr. 0.04 per Kilo corporeo non producono alcun disturbo, nè locale sul tubo digerente, nè generale; dosi maggiori provocano rapidamente il vomito, vengono rigettate, e l'animale sfugge così a qualsiasi disturbo ulteriore (Vedi Tabella IIIa).

Il vomito nei cani (2) si ha solo con dosi di gr. 0.70 o più per kilo; pare insorga tanto più prontamente quanto più elevata è la dose; non è mai preceduto da nausea lunga e penosa; ma compare bruscamente, con pochi conati, e si ripete al massimo due o tre volte, fino a che lo stomaco si vuota completamente.

Se l'animale è a digiuno, vomita un liquido giallo, limpido, misto a saliva schiumosa ed a muco, senza odore particolare, del tutto corrispon-

---

(1) Per questo confronto è opportuno non tener conto dell'esperienza 1a, fatta con soluzione troppo concentrata e con velocità eccessiva, talchè l'introduzione della sostanza fu più rapida del tempo minimo necessario a che se ne potessero constatare gli effetti e si potesse valutare bene il momento di sospendere l'iniezione.

(2) Il vomito è provocato sicuramente dal solfo e non dal solfato sodico che trovasi come impurità nelle soluzioni colloidali del solfo, del che fa sicura fede da un lato la storia

TABELLE III. — Solfo colloidale per via gastrica nef cani.

Esperienza.			Iniezione di						Osservazioni.	
N°	Data.	Peso dell'animale in kgr.	Soluzione di solfo.	S %.	Cm³.	Alle ore.	S in gr.	S in gr. per kilo.	Vomita dopo.	Varie.
a	*b*	*c*	*d*	*e*	*f*	*g*	*h*	*i*	*l*	*m*
17	27-4-08	6.200	13	1.15	4	9.41'	0.0460	0.007	—	A digiuno — non presentò nulla.
18	27-4-08	4.600	13	1.15	5	9.49'	0.0575	0.012	—	» » »
23	29-4-08	6.200	15	1.66	15	9.58'	0.2490	0.040	—	» » »
20	29-4-00	4.600	14	1.49	30	9.40'	0.4470	0.097	26'	A digiuno.
13*b*	26-4-08	6.200	11	0.92	50	10.17'	0.4600	0.074	20'	»
13*a*	26-4-08	6.200	11	0.92	50	9.25'	0.4600	0.074	15'	»
14	26-4-08	4.600	10	0.84	100	10.2'	0.8400	0.182	10	Subito dopo ilpasto.
	In un gatto.									
19	27-4-08	2.500	13	1.15	5	10.—	0.0575	0.023	—	A digiuno — non presentò nulla.

dente alla soluzione di solfo amministrata; e mentre questa è sempre di reazione neutra, il liquido vomitato ora è neutro, ora è leggermente acido, ed ora alcalino, a seconda che in esso prevale la secrezione gastrica o la saliva deglutita.

Il vomito non lascia alcun segno di prostrazione o di malessere, non altera sensibilmente nè il respiro nè il polso; immediatamente dopo l'animale è festoso ed appetisce vivamente il mangiare.

Nei conigli invece, che non possono vomitare, le dosi piccole (fino a gr. 0.10 per kilo) riescono ancora del tutto innocue, vengono tollerate benissimo e non provocano alcun disturbo; ma le dosi elevate (oltre gr. 0.15 per kilo) sono in poche ore letali (Vedi Tabella IV). I risultati però che si ottengono in queste esperienze sono un pó incerti ed incostanti, ben lontani da quella precisione che si aveva colle iniezioni endovenose; e questo si comprende come possa avvenire, quando si rifletta alle condizioni chimiche ambienti variabilissime che le soluzioni colloidali incontrano subito nello stomaco; quando si rifletta alla facilità con cui passano dallo stato idrosolico allo stato idrogelico; quando si rifletta alla facilità con cui questo solfo passa ad una forma amorfa insolubile e poi a forme cristalline; quando si rifletta che deve rimanere molte ore nel tubo digerente, e subire l'azione di secreti diversissimi nei vari tratti di esso; quando in fine si rifletta che le nostre soluzioni colloidali sono tutte diverse, non solo per la quantità di solfo, ma anche per la quantità di solfato sodico che contengono come impurità. Nelle esperienze fatte con iniezioni endovenose mostrammo che la piccola quantità di solfato sodico che si viene ad iniettare contemporaneamente al solfo non può in alcun modo riuscire dannosa; ma quì, dove si introducono nei

---

farmacologica del solfato sodico, e dall'altro quattro esperienze di controllo, che ho eseguite su quei due cani che m'ànno servito per le esperienze col solfo :

Esperienza N.	Data	Cane di Kgr.	Solfato sodico (Na_2SO_4) introdotto nello stomaco			Osservazioni.
			sol. °/₀ in gr.	cm³.	gr.	
24	30-4-08	6.200	5	20	1.	Non presentarono alcun disturbo, non vomito, non nausea.
25	30-4-08	4.600	5	30	1.5	
26	2-5-08	6.200	10	50	5.	
27	2-5 08	4.600	10	50	5.	

Questa conclusione non può essere oppugnata seriamente dal fatto che il magistero di solfo a dosi di gr. 0.50 e gr. 1.0, esperienze 31ª, 30ª, non provoca il vomito.

TABELLA IV. — Solfo colloidale per via gastrica nei conigli.

Esperienza.			Iniezione di						Osservazioni.	
No	Data.	Coniglio di kgr.	Soluzione di solfo.	S °/₀₀.	Cm³.	Alle ore.	S in gr.	S in gr. per kilo.	Muore dopo.	Varie.
a	*b*	*c*	*d*	*e*	*f*	*g*	*h*	*i*	*l*	*m*
4*a*	7-4-08	1.080	1/10	0.26	10	12.—	0.0260	0.024	—	Non presenta nulla.
21	29-4-08	1.200	14	1.49	6	9.42'	0.0894	0.074	—	» » »
4*b*	7-4-08	1.080	2	1.00	10	16.5'	0.1000	0.092	—	» » »
22	29-4-08	1.180	15	1.66	15	9.55'	0.2490	0.211	—	» » »
16	27-4-08	1.100	12	1.37	12	9.33'	0.1644	1.149	8.42'	
15	27-4-08	1.080	12	1.37	20	9.30'	0.2740	0.255	7.20'	

conigli per via gastrica fino gr. 2 di solfato sodico anidro per kilo (esp. 15a), corrispondenti a circa gr. 4 di solfato cristallizzato ordinario, non oserei più asserire che la sua presenza non abbia potuto contribuire in qualche modo a modificare, sia pure in minimo grado, la sindrome che si sarebbe ottenuta col solfo purissimo. Nè da questo dubbio mi scioglie interamente il risultato di esperienze comparative che ho fatte nei conigli con solfato sodico puro ed in quantità elevata, paragonabile a quella che era contenuta in alcune delle soluzioni di solfo colloidale (1), perchè so bene quanto sia azzardoso fare giudizi aprioristici circa l'azione combinata di due farmaci, anche quando siano perfettamente conosciute le azioni loro singole.

I sintomi che i conigli presentano per l'uso gastrico di solfo colloidale, quali risultano chiari e concordi dai protocolli delle esperienze (2) in cui l'animale morì, possono essere riassunti come segue.

(1)

Coniglio		Riceve per via gastrica				Osservazioni.
Esp. N°.	di Kgr.	soluzione.	cm³.	S colloidale gr.	Na_2SO_4 gr.	
21	A — 1.200	14	6	0.089	0.606	Nessuno dei due conigli presentò mai il benchè minimo disturbo.
28		Na_2SO_4 10°/₀	20	—	2.000	
22	B — 1.180	15	15	0.249	0.111	
29		Na_2SO_4 10°/₀	30	—	3.000	

(2) **Esperienza 15a.** — Coniglio f. di kgr. 1.080. 27-4-08.

9.30' introduco nello stomaco cm³ 20 di sol. colloidale di solfo (12) all'1.37 °/₀, contenente gr. 0.274 di solfo.

14.— (dopo 4.30') emette feci un po' molli.

14.45' (dopo 5.15') emette feci abbondanti e assai molli, che formano una poltiglia tutta unita.

15.40' (dopo 6.10') ha sempre diarrea forte, i movimenti intestinali fortissimi si vedono attraverso le pareti addominali — viene colto da una convulsione fortissima, dopo la quale resta immobile, sdraiato nel fianco, con reflessi debolissimi.

16.50' (dopo 7.20') muore.

Alla sezione fatta subito si nota che lo stomaco non presenta nulla di anormale; i tenui contengono molto liquido mucoso, gialliccio, scorrevole, inodoro; il colon ed il cieco sono gonfi da gas e contengono una poltiglia verde, scorrevole; appena s'incidono si afflosciano e mandano un fortissimo odoro di solfidrico. I reni sono congesti; l'urina contenuta in vescica è rossastra, limpida, acidissima, e dà intensa reazione di solfati; non contiene nè materie coloranti del sangue, nè pigmenti biliari.

Esperienza 16a. — Coniglio f. di kg. 1.100. 27-4-08.

9.33' Introduco nello stomaco cm³ 12 della soluzione sopradetta, contenenti gr. 0.1644 di solfo.

Anche in questo coniglio si ebbe emissione di feci molli solo dopo 5 ore circa;

Dapprima abbiamo un lungo periodo di 4-5 ore, nel quale il coniglio sta bene; dopo comincia diarrea; ad essa segue presto la comparsa di convulsioni, e poi paralisi; la morte avviene per paralisi del centro respiratorio. Alla sezione cadaverica nello stomaco si trovano solo piccole quantità d'acido solfidrico, non se ne trova affatto nei tenui, se ne trova invece una fortissima quantità nei crassi. L'urina è acidissima e molto ricca di solfati, anche quando, come nell'esp. 22ª, il coniglio ha ricevuta della soluzione di solfo quasi pura.

IV. – Da che proviene l'azione farmacologica del solfo colloidale.

Il solfo colloidale, dato per bocca, quando arriva nell'intestino grosso incontra dei processi di putrefazione, dell'idrogeno allo stato nascente, dei processi di riduzione intensa, i quali lo trasformano in acido solfidrico, come farebbero per un'altra forma ordinaria di solfo. L'acido solfidrico che quivi si produce irrita l'intestino e provoca la diarrea, poi viene assorbito e provoca l'azione tossica generale. Nello stomaco si forma solo una piccolissima quantità di acido solfidrico, che verosimilmente è la causa del vomito osservato nei cani. Mentre poi l'acido solfidrico si produce con una certa lentezza nell'intestino, si ossida abbastanza rapidamente, quando è entrato in circolo, fino ad acido solforico (1); così l'azione sua generale compare molto tardi, solo per dosi alte, si svolge lentamente, ed è accompagnata da fatti di intossicazione acida.

Questa forma di avvelenamento da solfo per via gastrica è di grande interesse per la farmacologia, perchè quantunque nella letteratura si trovino descritti alcuni casi di avvelenamento per uso interno di grandi quantità di fiori di solfo, non se ne conosce però nessuno che abbia avuto esito letale (STOKVIS), e si è indotti a credere che i casi di avvelenamento descritti anticamente fossero prodotti da impurità pericolose e non rare dei fiori di solfo (arsenico).

Ora è indubitato che, quando non compaia il vomito, si può avere un avvelenamento letale per via gastrica con una forma speciale di solfo purissimo, colloidale; avvelenamento che si produce con un processo chimico-fisiologico, il quale è in perfetto accordo con quanto è noto da

---

si ebbe comparsa di convulsioni solo dopo 6 ore; poi depressione profonda, alternata da moti convulsivi per quasi un' ora e mezzo di séguito, dopo di che il coniglio morì.

Alla sezione cadaverica eseguita subito si ebbero gli stessi fatti che nel coniglio antecedente, tranne che nei caratteri dell'urina, che quì era poco colorata, leggermente acida e non molto ricca di solfati.

(1) REGENSBURGER M. : *Ueber die Ausscheidung der Schwefelsäure im Harn nach Aufnahme von fein vertheiltem Schwefel im Darm.* Zeitschr. f. Biologie *12*, 479.

tempo circa l'azione farmacologica dei preparati ordinari di solfo, dati per via gastrica.

Il solfo è insolubile nell'acqua (1) e tale in fondo è da considerare anche nella forma colloidale, pseudo sciolta; l'azione farmacologica sua dipende da una trasformazione in prodotti solubili, principalmente acido solfidrico, e questa trasformazione, come sempre avviene per le sostanze insolubili, si effettua più o meno rapidamente in funzione della superficie d'attacco che offre ai liquidi intestinali. Perciò, com' è noto, l'azione farmacologica del solfo è tanto più intensa quanto più fino è il preparato; i fiori di solfo, grossolani, sono poco attivi; il magistero di solfo, finissimo, è circa dieci volte più attivo; ed il solfo colloidale, per la sua finezza estrema, è di gran lunga più attivo degli altri, ed introdotto per bocca può riuscire velenoso e letale, mentre gli altri preparati non lo sono.

La sindrome molto complessa di questo avvelenamento da solfo colloidale per via gastrica comprende : vomito, diarrea, disturbi colici forti, alterazione graduale del sangue con formazione di solfo-meta-emoglobina, intossicazione acida da acido solforico, disturbi nervosi da acido solfidrico.

*
* *

Nei conigli che muoiono per effetto di *iniezioni endovenose di solfo colloidale* si trova il sangue di aspetto normale, perfettamente liquido, senza traccia di coaguli, e fuori dei vasi coagula poi normalmente. Aprendo il torace e l'addome, si osserva che il cuore seguita a pulsare a lungo, e le intestina si contraggono e muovono molto vivacemente. Spesso si avverte che i visceri mandano odore bene manifesto di acido solfidrico.

Quest'ultimo fatto m'indusse a credere che il solfo colloidale, anche quando è iniettato nelle vene, rapidamente si trasformi in acido solfidrico, del che ottenni poi facilmente la dimostrazione sicura nell'esperienza 3ª. Feci la tracheotomia ed applicai una cannula in modo che il coniglio fosse costretto a respirare attraverso a delle valvole, e che l'aria espirata gorgogliasse dentro una soluzione di acetato di piombo. Assicuratomi poi che l'aria espirata normale non produceva alcuna traccia di annerimento del reattivo, cominciai ad iniettare nella vena lentamente e con velocità costante una soluzione diluita di solfo colloidale; dopo un minuto circa, e quando si erano introdotti appena cm^3 1.7 di soluzione al 0.26 %, cioè meno di due milligrammi di solfo, il reattivo mostrò evidente colorazione bruniccia, che in seguito rapidamente passò al nero deciso. Similmente nell'esperienza 5ª potei riconoscere l'eliminazione di acido solfidrico

(1) Il solfo non è veramente del tutto insolubile nell'acqua (Bütschli O. : *Ueber die Löslichkeit des Schwefels in Wasser und Glycerin.* Zeitschr. f. Krystall. *31* (1899), 277-279) ma la solubilità sua è così estremamente piccola, che direttamente non potrebbe mai spiegare nessuna delle azioni farmacologiche del solfo.

nell'aria espirata; solo notai che in questo caso l'iniezione, essendo fatta con grande lentezza, in 22 minuti primi, la comparsa della colorazione nera si ebbe un po' più tardi, e quando erano entrati in circolo cm^3 3.5 di soluzione al 0.11 %, ossia due milligrammi e mezzo di solfo per kilo di coniglio. È certo quindi che il solfo colloidale iniettato nelle vene tosto svolge dell'acido solfidrico, il quale passa abbondantemente nell'aria espirata; ma a questo punto sorge naturale il dubbio che il solfo colloidale sia per se stesso inattivo e che le azioni farmacologiche e tossiche osservate iniettandolo nelle vene siano invece prodotte dall'acido solfidrico che svolge, analogamente a quello che sicuramente avviene quando si dà per bocca; ed il dubbio diventa fondata convinzione quando si rifletta alla perfetta rassomiglianza dei risultati ottenuti ora dal solfo colloidale con quelli notissimi che si ottengono dall'acido solfidrico.

Come già molti anni addietro aveva osservato BERNARD (1) per l'acido solfidrico, ora per questo solfo l'azione farmacologica e tossica varia enormemente a seconda che viene introdotto nelle vene o nel tubo digerente; e sempre produce dell'acido solfidrico.

L'azione generale del solfo iniettato nelle vene è identica a quella descritta (2) per l'acido solfidrico; come questo colpisce prevalentemente il sistema nervoso; dà fenomeni di eccitazione violenta, con esagerazione dei riflessi e convulsioni generali, poi paralisi generale e morte per arresto del respiro; provoca un rallentamento grande nella frequenza dei battiti del cuore, che seguita a pulsare lungamente dopo che è comparsa la paralisi generale.

La grande analogia farmacologica dell'H_2S e del solfo colloidale appare evidentissima (esperienza 35ª) anche dal confronto dell'azione diretta di queste sostanze sul gastrocnemio isolato di rana (fig. 2).

Se poi confrontiamo le dosi minime letali del solfo e dell'acido solfidrico, per quanto sia quasi impossibile poterle fissare con sicurezza; troviamo che si accordano molto bene fra loro. Con iniezioni rapide abbiamo visto che la dose letale del solfo è per kilo di coniglio di sei milligrammi e quella dell'acido solfidrico in condizioni analoghe può fissarsi a due-tre milligrammi per kilo (3). Queste cifre ci appariscono poi ancora più concordanti quando si pensi che coll'iniezione del solfo interviene un tempo di latenza inevitabile, necessario alla sua trasformazione

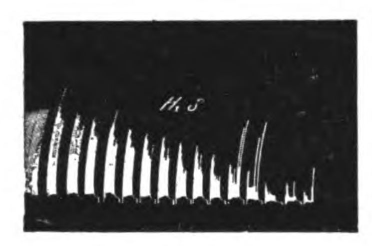
(1) BERNARD C.: *Leçons sur les effets des substances toxiques et médicamenteuses*. Paris, Baillière et Fils, 1857, p. 55-59.

(2) POHL J.: *Ueber die Wirkungsweise des Schwefelwasserstoffs und der Schwefelalkalien*. — Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 22 (1887). 1-25.

(3) **Esperienza 11ª**. — 18-4-08. — Coniglio f. di kg. 0.840.

Iniezione fatta a più riprese in 6' nella giugulare con cm^3 8 di soluzione d'H_2S (in soluzione fisiologica) contenente gr. 0.01938 % di H_2S. Dapprima si ha rallentamento

Fig. 2.





Il gastrocnemio di destra è tenuto immerso in cm³ 30 di soluzione fisiologica contenente gr. 0.0544 % di H_2S*; quello di sinistra della stessa rana in cm³ 30 di soluzione fisiologica, contenente gr. 0.16 % di solfo colloidale. Ogni 5' si allontana la soluzione e si prova l'eccitabilità dei muscoli con stimolazioni elettriche d'intensità costante.*

in H_2S; quando si rifletta che la velocità con cui l'acido solfidrico entra o si forma in circolo ha una grandissima influenza sulla dose letale (e ciò benissimo l'abbiamo pur visto col solfo); quando si rifletta che eliminandosi rapidamente dell'acido solfidrico coll'aria espirata, la dose sua letale appare tanto più elevata quanto più lenta è la sua comparsa in circolo.

Il solfo colloidale si comporta quindi in tutto come quelle sostanze solforate, che introdotte in circolo, rapidamente si decompongono con sviluppo di acido solfidrico, della qual cosa fa sicura testimonianza un confronto fra l'azione farmacologica ora studiata di questo solfo, quella, studiata pure da me diciasette anni addietro, del ditiocarbonato sodico (1) e quella del solfoantimoniato di sodio studiata da LEWIN (2).

DACCOMO avvertiva che questo preparato con acidi anche diluiti si decompone svolgendo H_2S, CO_2, COS e deponendo del solfo; io vidi che a decomporlo bastava la presenza di anidride carbonica, e che una simile decomposizione con sviluppo di H_2S avviene anche quando è iniettato nelle vene dei conigli. Questi, come ora col solfo colloidale,

forte del cuore, poi moti convulsivi e paralisi generale; il cuore seguita a pulsare a lungo. L'animale muore con gr. 0.0019 di H_2S per kilo corporeo.

Esperienza 12ª. — 18-4-08. — Coniglio f. di kgr. 1.140.

Iniezione fatta lentamente in 6' ed in una volta sola con cm³ 18 della soluzione sopradetta. Per un buon tratto l'animale non mostra alcun disturbo, dipoi presenta un forte rallentamento dei battiti cardiaci, convulsioni generali tonico cloniche, e poi toniche; paralisi generale.

Il cuore seguita ancora a pulsare a lungo. L'animale muore con gr. 0.0030 di H_2S per kilo corporeo.

(1) SABBATANI L.: *Ricerche farmacologiche sul ditiocarbonato sodico.* Bull. delle Sc. Med. di Bologna, Serie VII, vol. II (1891).

(2) LEWIN L.: *Ueber die Veränderungen des Natriumsulfantimoniats im Thierischen Organismus ecc.* Virchow's Arch. 74 (1878), 220-237.

presentavano eccitazione generale, poi depressione e paralisi, in fine morivano per arresto del respiro, mentre il cuore seguitava a pulsare a lungo. Come ora per il solfo, la tossicità variava grandemente colla velocità di assorbimento, e tutta la sintomatologia dell'avvelenamento concordava ancora assai bene con quella data dall'acido solfidrico, anche nella dose letale. Infatti il ditiocarbonato sodico:

$$Na_2COS_2 = 138$$

contiene il 46,3 % di solfo, e supponendo per le cose dette ora che solo due terzi di questo riescano a trasformarsi immediatamente in acido solfidrico, avremmo che dai due centigrammi circa di ditiocarbonato sodico che per via endovenosa riescono ad uccidere un coniglio di un kilo, si potrebbero sviluppare circa 6 milligrammi di acido solfidrico, il che corrisponde benissimo alla dose di 6 milligrammi di solfo colloidale che riuscivano letali nelle esperienze ad iniezione rapida (2ª; 6ª) e corrisponde pure bene alla dose letale dell'acido solfidrico, che abbiamo trovata di 3 milligrammi circa ed a quella di milligr. 2,6 che si calcola per l'esp. 6ª di POHL, in cui adoperava del solfuro di sodio.

Tutte queste ragioni di analogia strettissima fra l'azione farmacologica del solfo, dell'acido solfidrico e del ditiocarbonato sodico fanno credere che il solfo colloidale iniettato nelle vene sia veramente per sè stesso inattivo, e l'azione sua dipenda esclusivamente dall'acido solfidrico che svolge, come da esso dipende sicuramente l'azione del solfo per via gastrica.

V. — In quali parti dell'organismo il solfo colloidale si trasformi in acido solfidrico.

Che il solfo ordinario dato per bocca si trasformi nell'intestino in acido solfidrico è benissimo conosciuto da tutti, e da gran tempo; comunemente si attribuisce anzi questa trasformazione alla presenza nell'intestino di idrogene allo stato nascente; niuna meraviglia quindi che il solfo colloidale dato per bocca si comporti in modo identico. Ciò che invece a primo aspetto pare un po'strano si è che svolga istantaneamente idrogene solforato anche quando viene iniettato nelle vene dell'animale vivo, dove, se abbiamo dei processi di riduzione continuamente in atto, non abbiamo certo sviluppo di idrogeno nascente.

Era quindi interessante cercare in quale parte dell'organismo avvenga questa trasformazione; per la qual cosa ho fatte alcune esperienze in vitro, studiando come si comporti il solfo colloidale ed il magistero di solfo a contatto di vari organi.

Uccideva un coniglio per dissanguamento e defibrinava il sangue; tosto, e colla maggiore rapidità possibile, prendeva dei pezzi di vari organi

(possibilmente gr. 10), che asciugati dal residuo di sangue con carta bibula, tagliuzzava finamente e mescolava in un piccolo palloncino con una quantità determinata di soluzione colloidale di solfo (cm^3 1 per gr. 10 di organo). Chiudeva poi il vaso con un tappo di sughero al quale era appesa una listerella di carta da filtro tagliata a punta, ed imbevuta di una soluzione d'acetato neutro di piombo (1). Osservato se la cartina presentasse immediatamente qualche segno di annerimento, portava il vaso in termostato a 38° e ripeteva l'osservazione dopo mezzora, dopo un'ora, dopo 4-5 ore e dopo 24 ore.

Esperienza 6. — Coniglio di kgr. 1.250 ucciso per dissanguamento alle ore 9 (15-4-08).

N°	Organo.	Gr di organo preso	Soluzione 7 in cm^3.	Ora in cui è fatta la miscela.	Osservazioni fatte coll'acetato di piombo	
					immediatamente.	dopo un' ora a 38°.
1	Sangue	10.	1.	9.29'	Reazione debolissima	Reazione debolissima invariata.
2	Polmone	5.5	0.5	9.34'	Abbastanza intensa	Nero lucente molto intenso.
3	Fegato	10.	1.	9.33'	Nerissimo	Nero lucente intensissimo
4	Cervello	7.5	0.7	9.31'	Traccie	Molto forte.
5	Cuore	4.	0.4	9.36'	Nulla	Forte.
6	Muscolo	10.	1.	9.32'	Nulla	Nulla.
7	Rene	9.5	1.	9.35'	Nulla	Fortissima.
8	Feci	10.	1.	9.38'	Intensa	Fortissima.
9	Feci	10.	—	9.44'	Intensa	Fortissima.
10	Fegato	10.	—	9.52'	Nulla	Nulla.

Alle 14.30' (dopo 5 ore) mentre lo sviluppo di acido solfidrico è cresciuto molto ovunque, è rimasto invariato per il sangue, è diventato sensibile per il muscolo, ed il fegato normale (N° 10) mostra appena una traccia di reazione.

Dopo 24 ore la reazione data dal sangue è sempre invariata, quale comparve a principio, all'esame spettroscopico mostra però la stria caratteristica della solfo-meta emoglobina, ed al microscopio si vede che contiene dei cristalli di solfo e che i corpuscoli rossi sono scoloriti; molti conservano la loro forma normale, ma sono leggermente diminuiti di volume, spesso aderenti fra lóro.

(1) È questa la tecnica molto semplice che adottava il Selmi nelle sue prime esperienze del 1874.

Esperienza 7. — Coniglio di kgr. 1.520 ucciso per dissanguamento alle 10.5.

N°	Organo.	Gr. di organo preso.	Soluzione 1/5 in cm³.	Ora in cui è fatta la miscela.	Osservazioni fatte coll'acetato di piombo immediatamente.	Osservazioni fatte coll'acetato di piombo dopo mezz'ora a 38.
1	Sangue	10.	1.	10.30'	Nulla	Traccia
2	Fegato	10.	1.		Evidentissima	Fortissima — odore intenso
3	Cervello	9.5	0.95		Traccia	Forte
4	Muscolo	10.	1.		Nulla	Debole

Alle 14.30' (dopo 4 ore) mentre lo sviluppo di acido solfidrico è fortissimo ovunque, è rimasto invariato, una pura traccia, nel sangue, e tale rimane ancora dopo 24 ore. Anche qui all'esame spettroscopico si riscontra evidente la stria della solfo-meta emoglobina.

Esperienza 10ª. — Il siero di cavallo freschissimo e senza traccia d'inquinamento microbico col solfo colloidale (4/4) non dava alla temperatura ambiente neppure in 24 ore nessuno sviluppo sensibile di acido solfidrico.

Esperienza 33ª. — Cent. cub. 10 di cavallo, raccolto e conservato asetticamente da 5 mesi addietro vengono mescolati con gr. 0.20 di magistero di solfo e tenuti a 38°. Dopo 24 ore la cartina all'acetato di piombo sospesa sopra di esso era ancora del tutto incolora.

Da questo si vede quindi che quando il solfo colloidale viene a contatto di organi animali freschi dà sempre sviluppo di acido solfidrico: con alcuni dà uno sviluppo più abbondante e rapido, con altri invece scarso e lentissimo; l'organo che si mostra più attivo di tutti è il fegato, il meno attivo è il muscolo (1). Pare però che lo sviluppo di solfidrico sia molto variabile in uno stesso organo freschissimo per condizioni chimiche

---

(1) De Rey Pailhade : *Recherches expérimentales sur le degré d'affinité de divers tissus pour le soufre*. Compt. rend. 108 (1889), 356, mescolando con egual peso di solfo vari tessuti di animali, uccisi per dissanguamento, vide che si ha sviluppo immediato di acido solfidrico; e vide che se ne formano quantità varie a seconda del tessuto e dell'animale da cui è preso :

Tessuto gr. 100 mescolato con gr. 100 di solfo e con un poco di alcool a 45°.	Acido solfidrico prodottosi a 12°—14° in 40'.— cm³. Coniglio	Cane
Muscolo	1.22	1.39
Rene	0.94	1.15
Milze	0.62	1.68
Ossa con midollo	0.03	0.02
Adipe	0.01	0.01

intrinseche ad esso, e vari anche col tempo trascorso dopo la morte dell'animale.

Quando si protrae a lungo l'osservazione, ed insorgono dei fatti di putrefazione, allora lo sviluppo di solfidrico è molto intenso con tutti, anche col muscolo. Il sangue defibrinato non dà sviluppo di acido solfidrico, mà ciò non esclude che non si formi; perchè mano mano che si produce viene fissato dai globuli rossi sotto forma di solfo-metaemoglobina, la quale si riconosce molto facilmente all'esame spettroscopico. Solo il siero di sangue ha dato sempre risultato completamente negativo, tanto col solfo colloidale che col magistero di solfo, tanto alla temperatura ambiente che a 38°, tanto con siero freschissimo che con siero vecchio di parecchi mesi, conservato asetticamente.

VI. — Riassunto.

La formazione di acido solfidrico per il semplice contatto di materie organiche morte o vive con preparati di solfo purissimo, non è certo un fatto nuovo, per quanto sia sempre molto interessante per la chimica e per la biologia, e si collega intimamente colle questioni relative al così detto-*potere riduttore dei tessuti*. Nelle presenti ricerche mie ciò che vi è di nuovo a questo proposito è la formazione istantanea ed abbondantissima di solfidrico anche nel torrente circolatorio, quando s'inietta nelle vene quell'unico preparato di solfo, colloidale, che si può sperimentare per questa via.

Il solfo colloidale non ha quindi delle azioni farmacologiche sue speciali, diverse da quelle delle altre forme usuali, ma diversifica solo per l'intensità degli effetti che produce, molto maggiori che per le altre.

In tutte le varietà di solfi, cristallino, amorfo, colloidale, l'attività farmacologica cresce colla finezza del preparato, colla superficie di contatto che offre ai liquidi che reagiscono con essi e tendono a trasformarli in acido solfidrico; e questo è in perfetto accordo con quella graduale variazione delle proprietà fisiche che avvicinano le sospensioni alle soluzioni colloidali, e queste alle soluzioni vere (1).

(1) Righi A. : *Le nuove vedute sull'intima struttura della materia.* Bologna, V. Zanichelli 1908.

From the Laboratory of Pharmacology and Therapeutics
of Harvard University (Boston, U. S. A.).

The Pharmacological Action of Camphoric Acid

BY

MAURICE VEJUX TYRODE,

Instructor of Pharmacology in the Harvard Medical School.
Boston, U. S. A.

Camphoric Acid ($C_{10}H_{16}O_4$), an oxidation product of camphor, is a white, crystalline body almost insoluble in water but easily soluble in alcohol. It can be dissolved in water by the addition of an alkali such as sodium carbonate or hydrate, when the salt, sodium camphorate is formed.

Most text books of pharmacology and therapeutics and a few clinical reports (1, 2, 3, 4, 8, 9, 10, 12, 13), mention this substance and state that it decreases the secretion of sweat but otherwise possesses the same action as camphor. Furthermore they recommend its use in the night-sweats of Phtisis.

The general explanation for the supposed good effect in the latter condition is that camphoric acid paralyzes the nerve terminations of the sweat glands like atropine. Yet the pharmacologist Kobert (2) holds another theory. He assumes that the excessive sweating in Phtisis and other debilitated conditions is due to insufficient aëration of the blood; that the increase in carbonic acid in the latter stimulates the function of the sweat gland. Furthermore, he takes for granted that camphoric acid has the same action on the medulla as camphor, that it stimulates the respiratory and vasomotor centres and concludes that the decrease in sweating in Phtisis is due to a stimulation of respiration and to the better oxygenation of the blood. He also remarks that picrotoxin and other drugs stimulating the medulla have a good effect in tubercular night-sweats.

Although most text-books claim that camphoric acid acts in a similar

manner to camphor and besides decreases the action of the sudoriforous glands, few give any support for their statements.

There is, in the literature, an article by WAGENER (5), giving the results of experimental work. He cites two experiments with sodium camphorate; one on a cat where he studied general action and another on a rabbit where he observed the blood pressure. He concludes from these and some unpublished experiments upon frogs that camphoric acid has the same action on the central nervous system as camphor, that it may produce epileptiform convulsions and a rise of blood pressure in warm-blooded animals while in the cold-blooded that it acts like curare. He, however, does not mention the sweat glands.

DREESMAN (11) performed a series of experiments on cats to find out if camphoric acid could stop the profuse sweating caused by pilocarpine: but his results were negative.

Excepting a study of the action of camphoric acid on the heat regulating centers by HAYASHI (7), no other experimental work had been performed with this drug when the writer began his research in 1905. Since it had been so little studied and recommended with little scientific basis it seemed desirable to determine experimentally its pharmacological action and whether or not there was a basis for its application in medicine.

This research was interrupted for a period of time but when ultimately finished and the author again perused the literature before publication, he found the report of a painstaking work on this subject by FUJITANI (8). The latter had performed a few of the same experiments as the writer, yet he drew different conclusions. These will be mentioned when comparing the results.

Thê report of the work which follows is illustrated by quoting one or two experiments from each series and these represent more or less the average obtained. Throughout most of these, the sodium salt of camphoric acid was used on account of the difficult solubility of the latter and also in order to avoid acid-intoxication.

Experiments upon Frogs.

In these animals no symptoms could be elicited with less than 0.5 grammes of sodium camphorate injected into the ventral lymph sacs: they simply died many hours later from general paralysis.

In one experiment of the series, the animal showed no symptoms after 0.6 grammes; and another frog who had exhibited no effects for three days after the administration of 0.3 grammes died only in six days from 1.0 gramme. Thus it appears that the toxicity to cold-blooded animals is very low. The following example is quoted from the series to show the protocoll.

Experiment 92.

Frog weiging 47 grammes.

P. M.

4.0 Injected 5.0 c.c. 20 % sol. Sodium Camphorate in ventral lymph sacs.
4.10 No change.
4.30 Little dulness; lower limbs stained reddish.
5. Quite dull, yet makes slow movements.
5.30 Same.
6. Same.
6.30 Belly turned red. Animal almost entirely paralyzed.
6.45 Entirely paralyzed.
7. Exposed right sciatic and stimulated with electricity which gave good but slow contractions of the leg. Direct stimulation of muscles gave also slow contraction and slow relaxation. Heart stopped in diastole, blue and dilated.
7.45 Muscles and Sciatic Nerve cease to react.

In this experiment, as in others of the series, the first symptoms after an enormous dose were dulness of movements and reaction, increasing progressively until the animal was completely paralyzed. At this time the heart was stopped distended in diastole, the reflexes were abolished but stimulation of the sciatic still gave a contraction of the gastrocnemius which was weaker than normal, but direct stimulation of the muscle itself did not give a stronger contraction. Therefore, the assertion of WAGENER, that the motor end plates are paralyzed is not evident from these experiments. FUJITANI, on the other hand obtained practically the same results as the author.

At last, all tissues became irresponsive to external stimulation, but the dose necessary to bring about this result was in this one and in many other cases as high as one fiftieth of the body weight.

On account of the heart being found paralyzed in the general experiments a series on fenestrated frogs was performed and below is an example.

Experiment 94.

Frog weighs 46. 5 grammes.

P. M.

3.50 Exposed the heart and injected into dorsal lymph sacs 2 1/2 c.c. 20 % sodium camphorate solution. Heart beats, 48 per min.
4. Heart beat, 48 per min.
4.10 » » 48 per min. Applied to heart 6 drops of 1 % solution of sodium camphorate.
4.15 Heart beat, 48 per min.
4.25 » » 48 per min.
4.30 Again applied 6 drops 1 % solution sodium camphorate.
4.45 Heart beat, 48 per min.

P. M.

5.	Heart beat,	48	per min.	6 drops of 1 % sol. sodium camphorate.	
5.15	» »	44	»		
5.30	» »	44	»	Applied 6 drops 1 % sol. sodium camphorate.	
6.30	» »	44	»	» » » »	
7.	» »	48	»	Still very strong and regular.	
7.15	» »	48	»		
7.30	» »	48	»		
7.40	» »	48	»	Applied 6 drops of 2 % sol. sodium camphorate.	
7.45	» »	40	»		
8.	» »	40	»	» 6 » 4 % » »	
8.15	» »	40	»	» 6 » 8 % » »	
8.25	» »	40	»	» 6 » 15 % » » contractions strong.	
8.40	» »	48	»	Applied 6 drops of 20 % sol. sodium camphorate.	

8.45 Until 9. Applied a pledget of cotton soaket in 20 % sol. sodium camphorate directly upon the heart.

9. Heart beat 32 per min.

Next day.

A. M.

9.30 Heart beat 14 per min. Weak.

11. » » 10 »

12. » stopped in diastole.

The action is certainly not specific upon the heart when for five hours sodium camphorate was applied to the isolated organ in increased strength up to 20 % without any change in the beat and also when the organ lived for fifteen more hours, getting gradually weaker as any normal frog's heart might do under similar circumstances.

From the experiments performed on frogs it would seem to the author that there is no special action of sodium camphorate upon any particular organ but that by overwhelming doses such as one part to fifty of the body weight the « salt action » asserts itself and the tissues lose their irritability by changes in their osmotic pressure just as might occur after enormous doses of other inert salts as sodium sulphate.

Experiments upon warm-blooded animals.

Experiment 91.

Black Rabbit weighs 2 9/16 lbs.

P. M.

3.50 Injected subcutaneously 5.0 c.c. of 20 % solution of sodium camphorate.

4.30 Up to this thime no symptoms. Injected another 5 c.c.

5.0 No symptoms. Injected 5.0 c.c.

5.30 No symptoms. Injected 5.0 c.c.

6.0 No symptoms. Injected 5.0 c.c.

6.10 Bowels moved. Normal stools.

6.30 No change.

7.0 No change.

Next morning.

A. M.

8.0 Animal normal. Was still normal one week later.

Total quantity given 6.0 G. sodium camphorate.

Experiment 100.

Cat weighs 5 1/4 lbs.

P. M.

3.20 Injected subcutaneously 12.5 c.c. 20 % solution of sodium camphorate. Miows and fights on account of local pain and walks around cage.

4.0 Normal.

5.0 Normal. Injected another 12.5 c.c. Same fight but not so violent.

6.0 Normal.

6.20 Normal.

Next day.

A. M.

8.0 Normal. Passed urine during the night but no feces.

9.0 Normal.

Showed no change throughout the entire next day.

Total quantity given 6.0 grammes.

Even after very large doses, no effects were noticed in either cat or rabbits and therefore these experiments disagree entirely with those of WAGENER who obtained convulsions even opisthotonos and quickened respirations with much smaller doses. Probably his preparation was impure and centained unoxidized camphor or some poisonous inorganic ion as potassium. The corresponding experiments of FUJITANI are very similar with the exception that he observed increased respiration.

Experiments to Determine Action on « Respiration ».

In ten experiments to determine the respiratory capacity with a gasometer on rabbits, only two showed a slight rise, five exhibited a fall and three remained unchanged for hours in spite of the injection of large quantities, in one instance as high as 8.4 G. Under normal conditions, rabbits may present considerable variation in the respiratory capacity measured with the gasometer. Therefore, since in three experiments with very large doses no changes were observed, it would appear that the action of sodium camphorate on respiration is practically nihil.

Experiment 57.

Rabbit weighs 4 1/2 lbs.

A. M.

9.30 Received 12 c.c. chloral solution (10 %). Performed tracheotomy. Inserted a cannula in the trachea and connected with gasometer. Inserted cannula in jugular vein for injections.

	Air resp. in c.c. per min.	Remarks.
10.45	150	
10.50	400	
11.	450	
11.15	400	

	Air. resp. in c.c. per min.	Remarks.				
11.30	300	Injected	10 c.c.	sodium	camphorate	sol. (20 %).
12.	325					
1.10	450	»	2	»	»	»
1.25	500	»	2	»	»	»
1.35	500	»	2	»	»	»
1.40	550	»	2	»	»	»
2.	475	»	2	»	»	»
2.20	475	»	2	»	»	»
2.40	500	»	2	»	»	»
3.	550	»	2	»	»	»
3.20	450					
4.5	450					
4.45	450					

Experiment 59.

Rabbit 4 3/4 lbs.

A. M.
8.50 Received 10 c.c. chloral solution (10 %). Protocoll same as in previous experiment.

	Air resp. in c.c per min.	Remarks.				
9.5	500					
9.10	700					
9.20	550					
9.45	450					
10.	400	Injected	10 c.c.	sodium	camphorate	sol. (20 %).
10.30	425	»	4	»	»	»
11.	300	»	4	»	»	»
11.30	325	»	4	»	»	»
12.	350	»	4	»	»	»
1.	175	»	4	»	»	»
1.50	150	»	4	»	»	»
2.	225	»	4	»	»	»
2.30	200	»	4	»	»	»
3.30	275	»	2	»	»	»
4.	275					
5.30	400					

As may be seen in these two experiments, there is no definite action on respiration. In one of these the respiratory capacity seems to be slightly increased while in the other it is decreased after the different injections; but in both even after enormous doses it is practically the same in the end as in the beginning.

FUJITANI performed some experiments on respiration using the Marey tambour connected with the trachea. He concludes that the drug in question has a marked stimulating effect on respiration. This, however, is not sustained by his protocoll of which one instance is sighted below. As may be seen in this typical experiment the rise in the respiratory

curve, when present, took place immediately after injections and lasted only a few seconds as might occur from reflex irritation. Nowhere does he have a permanent rise during the four hours of his experiment, on the contrary the height of the respirations averages lower than normal if we exclude the short period of reflex irritation.

Fujitani's experiment.

« Versuch 4 ».

Kaninchen. Korpergewicht 2,27 Kilo.

Zeit.	Atemzahl in 10 Sek.	Hohe d. Atemkurve in mm.	Pulszahl in 10 Sek.	Blutdruck in mm. Hg.	Bemerkungen.
9 h. 5'	—	—	—	—	2,8 Urethan in den Magen.
10 h. 0'	—	—	—	—	Tracheotomiert, mit Mareyschem Tambour verbunden. Arterienkanüle in rechte Karotis.
10 h. 20'	12,0	7,0	48	123,0	
10 h. 34'	11,0	7,0	49	122,0	
10 h. 35'	—	—	—	—	0,01 Kamphersäure pro kg in die Ohrvene.
10 h. 35'5"	11,0	7,0	49	122,0	
10 h. 36'	11,0	6,0	49	122,0	
10 h. 41'	10,5	6,0	49	120,0	
10 h. 49'	10,0	5,0	49	121,0	

(The intermediate protocoll does not differ essentially from that which follows and therefore is omitted to save space).

1 h. 59'	10,0	3,5	43	85,0	
2 h. 0'	—	—	—	—	0,5 Kamphersäure pro kg. intravenös.
2 h. 0'4"	18,0	25,0-20,0	39	92,0-108,0	
2 h. 0'14"	15,0	20,0	40	90,0-78,0	
2 h. 0'24"	15,0	20,0	42	77,0-74,0	
2 h. 1'	11,0	8,0	42	94,0	
2 h. 20'	10,0	3,5	43	81,0	
2 h. 21'	—	—	—	—	0,5 Kamphersäure pro kg. intravenös.
2 h. 21'6"	19,0	21,0-20,0	36	71,8-85,0	
2 h. 21'16"	16,0	20,0	38	80,0-66,0	Starke Blutdruckerniedrigung, dann langsame Erhohung
2 h. 21'26"	17,0	20,0	40	66,0-58,0	
2 h. 22'	12,0	5,0	40	88,0	
2 h. 25'	11,0	3,5	41	88,0	
2 h. 31'	11,0	3,5	38	71,0	Versuch Abgebrochen.

Experiments to Determine the Action on « Blood Pressure ».

In such experiments no rise was ever noticed even with as large a dose as 8 G. given intravenously. At different times during the observation the blood pressure was slightly lowered. Even in spite of very large doses, it was practically the same at the commencement and end of the observation period.

Experiment 65.

Rabbit, medium size.

A. M.
9.45 Animal received three grammes of Urethan in 25 c.c. H_2O per os. Jugular vein and artery prepared with cannulas. The latter connected with a mercurial manometer.

	Blood Pressure in mm. of Hg.	Remarks.			
10.	60				
10.5	62				
10.30	64				
10.45	64	Injected 2 1/2 c.c. sodium camphorate sol. (20 %).			
11.	68				
11.5	68	» 2 1/2	»	»	»
11.15	60				
11.30	52	» 2 1/2	»	»	»
11.45	58	» 2 1/2	»	»	»
12.5	55	» 5	»	»	»
12.7	50	» 2 1/2	»	»	»
12.10	52	» 4	»	»	»
12.15	46	» 4	»	»	»
12.20	50	» 2	»	»	»

Experiment 63.

Rabbit medium size.

P. M.
2. Received 3 g. of Urethan and 25 c.c. H_2O per os. Protocoll same as in previous experiment.

	Blood Pressure in mm. of Hg.	Remarks.			
2.20	100				
3.5	110				
4.	94	Injected 2 1/2 c.c. sodium camphorate sol. (20 %).			
4.5	90				
4.7	98	» 2 1/2	»	»	»
4.10	90				
4.25	90	» 2 1/2	»	»	»
4.30	92				
5.	50				
5.30	60	» 5	»	»	»
5.35	90				
5.40	84	» 2 1/2	»	»	»
5.42	92	» 2 1/2	»	»	»
5.45	92	» 2 1/2	»	»	»
6.	100				

These two experiments speak for themselves. In number 63 the original blood pressure was 100 to 110. It fell and rose during a period of three hours and at last resumed its position at 100. That there was no direct effect due to the drug may be seen by the inconsistent changes which occured directly after the injections. Occasionally the pressure rose a little higher while at other times it fell a little lower.

In experiment number 65 the last reading is 50 against the first 60 and in spite of an intravenous injection of over 8 G. there are no noteworthy changes to be observed.

In this instance again we are in discord with the conclusions of WAGENER who claims for camphoric acid or sodium camphorate a power of raising blood pressure. Yet his conclusions are unwarranted by his experiment which shows rather a general decrease than an increase; for he was simply mislead by a temporary oscillation. Below is a copy of his experiment.

Experiment of Wagener. (*)

« **Versuch 2.**

Kaninchen von 1720 Gramm Körpergewicht. Kamphersäure in Form des kamphersäuren Natriums subcutan injicirt. Die Anordnung des Versuches sonst dieselbe wie in Abschnitt I.

Stunde.	Minuten.	Secunde.	Mittlerer Blutdruck in mm. Hg.	Bemerkungen.
4	49	—	141	
»	52	—	141	
»	55	—	125*	Curare in die Vena jug. injicirt, Einleitung der künstlichen Respiration.
»	59	—	119	
5	4	—	113	
»	10	—	112	
»	20	29	111* 125*	Resp. unterbrochen, Blutdrucksteigerung, auf der Höhe der erstickung Wiedereinleitung der künstl. Resp.
»	29	—	110	
»	31	—	99	
»	36	4	128	
»	41	—	108*	Injection von 0,45 Gramm Kamphersäure.
»	45	—	103	
»	49	—	95	

Stunde	Minuten.	Secunde.	Mittlerer Blutdruck in mm Hg	Bemerkungen.
5	50	3	93*	0,9 Gramm Kamphersäure
»	58	—	93	
6	3	-	75*	
»	3	3	104*	Plötzliche Steigerung des Blutdrucks, der sich 3 Secunden auf der Höhe hält, um dann in den nächsten 40 Secunden unter zwei abermaligen kleineren Erhöhungen zum vorherigen Druck allmählig abzufallen.
»	8	—	78	
»	10	—	71	
»	12	20	62*	
»	12	36	88*	Ziemlich plötzliches Ansteigen des Blutdrucks der sich etwa 2 Secunden auf der Höhe halt, in den folgenden 20 Secunden allmählig zum vorhergehenden Druck abfällt.
»	14	26	60	
»	21	—	56	
»	25	20	53* 92*	Resp. unterbrochen; Blutdrucksteigerung Auf der Höhe der Erstickung Wiedereinleitung der künstlichen Respiration.
»	32	—	63*	R. V. durchschnitten, ohne Einfluss auf den Blutdruck.
»	32	58	63*	L. V. durchschnitten, ohne Einfluss auf den Blutdruck.
»	33	28	33*	Blutverlust. Tod.

Aus diesem beiden Versuchen erhellt, dass die Camphersäure ganz ähnlich wie der Campher auf den Warmblüter wirkt. Dieselbe erzeugt periodische Krämpfe, welche man wegen ihrer Aehnlichkeit mit epileptischen Convulsionen, als Epileptiforme bezeichnen kann. Auch in Bezug aus die Blutdrucksteigerungen gilt dasselbe von der Camphersäure wie von Campher.

Bei Kaltblütern hat die Camphersäure, subcutan in den Lymphsack gespritzt, ebenfalls dieselbe curare-artige Wirkung wie der Campher. »

FUJITANI on the contrary does not claim an increase in blood pressure. He cites some experiments upon isolated kidneys perfused with a mixture of defibrinated blood and Ringer's fluid. From these he concludes that camphoric acid dilates the peripheral blood vessels. According to the work of PFAFF and TYRODE (14) the kidney perfused with defibrinated

blood is in an absolutely abnormal condition because the latter produces profound changes in this organ which renders any conclusions drawn from such experiments of but little value.

Experiments to Determine the Action on the « Urinary Secretion ».

This series was performed on rabbits and consisted of introducing the Pfaff-funnel into the bladder and of collecting the urine at stated intervals while the drug was injected intravenously. The following experiment will serve to illustrate the protocoll.

Experiment 71.

Rabbit medium size.

P. M.

3.5 Gave by stomach tube 3 g. of Aethyl Carbamate (Urethan) with 25 c.c. H_2O.

3.30 Inserted Pfaff-funnel into the bladder and cannula into the Jugular vein.

	Flow of Urine in c.c.	Remarks.
3.45-4.		
4. -4.15	1.1	
4.15-4.30	1.0	
4.30-4.45	2.8	Injected into vein 2 1/2 c.c. sodium camphorate sol. (20 %)
4.45-5.	5.0	» » 2 1/2 » » »
5. -5.15	6.2	» » 2 1/2 » » »
5.15-5.30	8.5	» » 2 1/2 » » »
5.30-5.45	14.0	» » 2 1/2 » » »

In this experiment as in others of the series, the urinary flow was increased with large doses just as after any indifferent salt injected intravenously or subcutaneously. These results are much the same as might be obtained with sodium sulphate or sodium chloride.

Experiments to Determine the Action on the « Metabolism ».

In eleven experiments lasting for periods of one to two months no changes in the nutrition were observed. The weight remained constant in grown rabbits but increased normally in the young. The urine was somewhat augmented in quantity but the solids not correspondingly. No irritation of the kidneys was ever observed. The gastrointestinal tract did not show any inflammation except when the dose was overwhelmingly large just as might happen with any neutral salts.

In these experiments sodium camphorate was used because whenever camphoric acid unneutralized was given in doses of over 5 G. the rabbits died with symptoms of acid intoxication.

The type experiment which follows is quoted only in part in order to save space since it does not show anything remarkable.

Experiment 85.

White Rabbit weighing 2 5/8 pounds.

After a test period of four days, administered daily 1 G. camphoric acid with 1 G. of sodium bicarbonate dissolved in 25 c.c. H_2O. Animal kept in metabolism cage's and received a quotidian ration consisting of 3/4 lb. carrots and 1/4 lb. oats.

Date.	Body Wgt. in lbs.	Feces in gms.	Urine in c.c.	Urea %.	Remarks.
July					
8	2 5/8				
9	2 11/15	29.8	85	2.02	
10	2 5/8	32.5	110	1.64	
11	2 5/8	8.7	170	1.13	
12	2 9/16	16.3	150	1.13	Administration of Camphoric Acid began.
13	2 1/2	6.85	180	0.76	
14 & 15	2 9/16	23.2	220	1.26	
16	2 5/8	38.2	80	1.51	

Data between July 16st and August 21st not essentially different from the above.

August					
21	2 3/4	10.45	170	0.5	
22	2 7/8	11.16			
23	2 11/16	9.45	180	0.5	
24	2 13/16	12.34	160	0.88	
25 & 26	2 13/16	35.42	430	0.88	
27	2 13/16	8.46	160	1.13	
28	2 7/8	6.17	265	0.76	
29	2 7/8	7.15	170	0.76	

Experiments to Determine Action on « the Secretion of Sweat ».

For these experiments kittens were chosen. Their sciatics were exposed and stimulated with a weak induction current while sweating was observed on the plantar side of the paws. Normally these perspired

profusely upon mild electrical stimulation of the sciatics. Drugs which paralyze the nerve terminations of the sudoriferous glands or the latter themselves, interfere with this reaction.

In ten experiments with camphoric acid, no action was observed. The protocoll given below illustrates the negative results.

Experiment 33.

Small black Kitten.

A. M.
11. Tied to board on the abdomen and injected 2 c.c. 10 % chloral sol. Profuse sweating of all fours.
11.15 Still sweating profusely.
11.20 Sweating in hind paws almost stopped.
11.30 No spontaneous sweating. Prepared right sciatic and stimulated with weak induction current, which gave profuse sweat in a few seconds.
11.42 Injected subcutaneously 2 1/2 c.c. sodium camphorate sol. (20 %).
11.47 Stimulated sciatic = profuse secretion.
11.55 » » = » »
12.5 » » = » »
3.45 » » = » » Injected 5 c.c. sodium camphorate sol. (20 %).
4. Stimulated sciatic = profuse secretion.
4.15 » » = » »
4.30 » » = » » Injected 5 c.c. sodium camphorate sol. (20 %).
5. Stimulated sciatic = profuse secretion.
5.15 » » = » »

In a few experiments such as the above where camphoric acid had failed to arrest sweating, atropine was administered, in order to test the methods. The latter drug produced a constant and immediate stoppage of the secretion. In the following experiment this point is illustrated.

Experiment 43.

Small grey kitten, weigt 770 g.

A. M.
10.15 Injected subcutaneously 1 c.c. morphine sol. (3 %).
10.30 Right sciatic nerve exposed. All paws sweating profusely.
10.35 Spontaneous sweating stopped.
10.40 Stimulated right sciatic = profuse perspiration.
10.45 » » » = » »
11.5 » » » = » » Injected 5 c.c. sodium camphorate sol. (10 %).
11.15 Stimulated right sciatic = profuse perspiration.
11.30 » » » = » » Injected 5 c.c. sodium camphorate sol. (10 %).
11.45 Stimulated right sciatic = profuse perspiration.
2,45 » » » = » » Injected 0,15 c.c. atropine sol. (1 %).
2.45-2.50 Continual stimulation of sciatic = no perspiration whatever.
3. -3.10 » » » = » »

From the foregoing experiments, it is obvious that camphoric acid has no a well marked pharmacologic action. When administered unneutralized, it merely produces acid-intoxication in herbivora just like any other substance of this class. In the form of a salt with a non-poisonous ion as sodium, it acts like members of the sodium sulphate group.

Even when a quantity amounting to two per cent of the body weight is given to frogs, no effect takes place. It is evident that amounts above that which produce changes may do so through the salt action by altering the osmotic pressure of the tissues.

The same inertness is observed in warm-blooded animals. Rabbits may take 8 1/2 G. in a short space of time without any action except some diuresis. The activity towards cats is no greater.

In view of all these facts it seems to the author, that camphoric acid and sodium camphorate have no action as antihydrotics, i. e. to check the secretion of sweat, nor as stimulants to the central nervous system and heart.

Clinical report.

While carrying on laboratory experiments to determine the action of camphoric acid, the writer induced several of his colleagues connected with hospitals to test this drug clinically, more especially for the night sweats of Pthisis, also in cases of pus inflammation of the urinary tract.

Dr. John Cunningham very kindly made observations at my request upon the effect of camphoric acid in uro-genital diseases. He gave it to fifteen cases of cystitis containing pus in the urine. In eleven of these this secretion was acid while in four it was alkaline. He observed a diminution in the pus and an improvement in the eleven with acid urine but in only one of the four with alkaline urine. If the good effect was referable to the drug it is possibly due to its acid properties.

The general conclusions of the gentlemen trying camphoric acid in night sweats were practically as follows : that they had seen no constant good effect; that occasionally a case which had sweat mildly ceased after a few weeks of camphoric acid treatment; that in a few instances the patients became worse and in severe sweating no beneficial results were obtained.

Dr. Holmes, superintendant of the Long Island Hospital which contains a large percentage of pthisical patients, after two years employment of camphoric acid in well observed cases came to the conclusion that the drug had little or no value.

Through the courtesy of Dr. Frederick Lord and of his assistant Dr. H. P. Greeley, the following case is quoted because it serves as a good example of the action of camphoric acid in tubercular patients.

Case.

Mrs. Finnigan, — Advanced pulmonary Phtisis. Previous to treatment with camphoric acid, patient had one to two sweats every night, rarely went without any, occasionally had three to four.

Date.	Number of sweats.	Remarks.
March 11	2	Camphoric acid 2 G.
12	4	» » » »
13	1	» » » »
14	1	» » » »
15	1	» » » »
16	2	» » » »
17	3	» » » »
18	2	Camphoric acid discontinued because of vomiting.
19	0	
20	0	
21	1	
22	3	
23	2	

This case speaks for itself.

Thus, the clinical observations made by my colleagues and myself corroborate the experimental studies of camphoric acid. Although it may have some utility in cystitis with acid urine, it certainly has no field of usefulness in the night sweats of Phtisis or as a stimulant of the respiration and circulation.

References.

1. Unna : Lehrbuch d. Allg. Therap. III, s. 898.
2. Kobert : Lehrbuch d. Pharm., s. 304.
3. Boulloche : Manuel de Thérap. Med., p. 260.
4. Cushny : Text-Book of Pharm. and Therap., p. 435.
5. Wagener : *Unters. ub. d. Wirkung des Kamphers u. des Kamphersäure.* Inaug.-Diss. Marbourg 1889, s. 37-71.
6. Fujitani : *Beitr. z. Pharm. der Kamphersäure.* Arch. internat. de Pharmacodyn. et de Thér., XVI, 1906, p. 273.

7. Hayashi : *Ueber die antipyretische Wirkung der Medullar-Krampgifte mit besonderer Berucksichtung der zyklischen Isoxime.* Archiv f. exp. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 50, s. 263, 1903.
8. Reichert : *Ueber die lokale Anwendung der Kamphersäure.* Vortrag in der Sitzung am 30 Mai 1888 der Berl. med. Gesellsch. Deutche med. Wochenschrift. 1888, s. 747.
9. Niesel : *Ueber die Anwendung der Kamphersäure bei Katarrhen verschiedener Schleimhaute.* Deutsche med. Wochenschrift 1888.
10. Leu : *Die Wirkung der Kamphersäure gegen die Nachtschweisse der Phtisiker.* Charité-Annalen. Bd. 14. s. 345, 1889.
11. Dreesman : *Ueber die antihydrotische Wirkung der Kamphersäures.* Inaug. Diss. Bonn, 1889.
12. Hartleib : *Beitrage zur therapeutischen Verwendung der Kamphersäures.* Wien. med. Presse. Bd. 31, s. 8, 1890.
13. Bohland : *Die Anwendung der Kamphersäure and ihre Ausscheidung im Harn.* Deutsches Archiv f. klin. Medicin. Bd. 47, s. 289, 1891.
14. Pfaff und Tyrode : *Ueber Durchblutung isolierter Nieren und den Einfluss defibrinierten Blutes auf die Secretion der Nieren.* Archiv fur exper. Pathol. u. Pharmakol. Bd. XLIX, s. 324.

Travail de l'Institut de Bactériologie de l'Université de Louvain
(Directeur : Prof. J. Denys).

Sort des toxines du staphylocoque pyogène (leucocidine et staphylolysine) et de leurs antitoxines (antileucocidine et antistaphylolysine) après leur injection dans le sang

PAR

LE Dr L. MALDAGUE.
Assistant.

Introduction.

On s'est peu occupé du sort des poisons microbiens injectés dans le sang. Les premières recherches qui furent orientées dans cette direction émanent du laboratoire de Monsieur le Professeur Heymans de Gand. Dans une note publiée en 1897, Decroly (1) constate que la toxine diphtérique injectée dans le sang, en disparaît totalement, mais avec une certaine lenteur. A cette époque l'auteur injectait des doses de toxine plusieurs fois mortelles. Reprenant en 1899 le même sujet en collaboration avec Ronsse (2), il établit que si l'on injecte une simple dose, ou seulement un petit nombre de doses mortelles, la toxine disparaît rapidement du sang pour se fixer dans l'organisme. Si, en effet, quelques minutes seulement après l'injection d'une dose mortelle de toxine diphtérique à un grand lapin, on lui extrait la presque totalité de son sang, et si on lui restitue le sang d'un lapin neuf, l'animal succombe à l'intoxication diphtérique. C'est donc qu'au moment de la saignée, la toxine s'était déjà fixée sur les organes.

Decroly et Ronsse firent la contre-épreuve de cette expérience en transfusant à un lapin plus petit et préalablement saigné, le sang de

(1) O. Decroly : *Sur la disparition de la toxine diphtérique injectée dans le sang.* Arch. int. de Pharmac. et de Thérapie. 1896, vol. III. p. 61.

(2) O. Decroly et I. Ronsse : *Pouvoir toxique et antitoxique du sang, après injection intraveineuse de venin, toxine et antitoxine* Ibid. 1899, vol. VI, p. 211.

l'animal injecté de toxine diphtérique. Si la toxine était demeurée dans le sang, l'animal auquel celui-ci était transfusé, aurait dû mourir. Or il survivait parfaitement, nouvelle preuve que la toxine avait déjà quitté le sang.

Les auteurs gantois étendirent leurs recherches à la toxine tétanique et au venin des serpents. Les résultats obtenus avec ces deux poisons concordèrent parfaitement avec les résultats antérieurement acquis. A part de légères différences dans la rapidité avec laquelle le phénomène s'accomplit pour les différents poisons, le résultat global fut que les toxines introduites dans la circulation ne s'y attardent pas, qu'elles en sortent au contraire avec une grande rapidité (endéans 10 minutes) pour se fixer sur les organes dont les lésions entraînent ultérieurement la mort de l'animal.

Decroly et Ronsse complétèrent leurs si intéressantes études en recherchant comment se comporte l'antitoxine diphtérique dans les mêmes conditions. Ils constatèrent que de petites quantités d'antitoxine introduites dans le sang en disparaissent également, mais avec beaucoup moins de rapidité (1 heure environ) que les toxines. Cette antitoxine paraît également retenue par les organes, puisqu'un animal d'abord injecté d'antitoxine, et dont on remplace après 60 minutes le sang par celui d'un animal neuf, supporte, avec une longue survie, l'injection d'une dose mortelle de toxine.

Il nous a paru intéressant d'étendre les recherches inaugurées au laboratoire de Gand, à de nouvelles toxines et à de nouveaux anticorps, et aussi de préciser ce qu'il advient de ces substances après qu'elles ont quitté le sang.

Nous avons choisi comme sujet d'étude les poisons sécrétés par le staphylocoque pyogène et leurs anticorps. Mais comme des doutes planaient encore sur l'unité ou sur la multiplicité des sécrétions toxiques de ce microbe, nous avons dû commencer par élucider cette question et par démontrer, soit en confirmant les recherches antérieures, soit en apportant des preuves nouvelles, que cet organisme sécrète au moins deux poisons différents : la leucocidine et la staphylolysine. Il nous a fallu également établir que l'antileucocidine et l'antistaphylolysine sont deux antitoxines différentes.

Notre travail se divise donc tout naturellement en trois chapitres. Nous recherchons :

Dans le premier si la leucocidine et la staphylolysine sont deux poisons différents ;

Dans le second si l'antileucocidine et l'antistaphylolysine sont deux antitoxines distinctes ;

Dans le troisième ce qu'il advient de chacune de ces substances quand on les introduit dans le torrent circulatoire.

CHAPITRE I.

La leucocidine et la staphylolysine sont deux toxines différentes.

Si l'on injecte dans la cavité pleurale d'un lapin de taille moyenne un centimètre cube d'une culture sur bouillon de staphylocoques virulents, l'animal meurt dans l'espace de 12 à 24 heures, avec un exsudat pleural souvent très abondant, 5 à 10 centimètres cubes. Cet exsudat se présente comme un liquide trouble quelquefois à peine coloré, d'autres fois très rouge, selon la quantité de globules rouges extravasés.

Lorsque l'on examine cet exsudat au microscope on constate qu'il est riche en microbes, pauvre en globules blancs, et qu'il ne renferme pas de globules rouges, ceux-ci ayant été dissous.

Les globules blancs se présentent sous un aspect particulier. Tandis qu'à l'état normal ils ne montrent pas leur noyau, celui-ci étant caché par les fines granulations dont le protoplasme est bourré, dans l'exsudat au contraire le noyau est nettement visible. Il se présente comme une petite vésicule vide, tapie contre la membrane du globule. Le protoplasme est complètement vidé de ses granulations.

Si l'on porte la préparation sur la platine d'un microscope chauffé à 37°, au lieu de quitter leur forme ronde, et de pousser des pseudopodes comme ils le font à l'état vivant, les globules de l'exsudat restent figés dans l'immobilité la plus complète. Ils sont morts.

Ces altérations des globules blancs on peut les voir se développer sous ses yeux, en poursuivre à son aise toutes les phases en procédant de la manière suivante.

Après avoir centrifugé l'exsudat de façon à le débarrasser de tous les cadavres de globules blancs qu'il renferme, on en transporte une goutte sur une lamelle porte-objet. On mélange à cette goutte d'exsudat une trace de globules blancs obtenus par injection dans la plèvre d'un lapin de staphylocoques tués, d'aleuronates ou d'une simple solution de peptone à 20 %. On couvre la préparation d'un petit verre et on la porte rapidement sur la platine chaude du microscope. Les globules granuleux et ronds commencent à se déformer dès qu'ils ont atteint une température suffisante. Ils poussent des pseudopodes. Mais ces mouvements s'arrêtent bientôt. Le globule reprend sa forme ronde, s'immobilise. On voit sur un petit espace de sa périphérie sa membrane se soulever sur une petite boule transparente. Les granulations du protoplasme pâlissent, puis finissent par disparaître complètement. Le noyau apparaît d'abord encore granuleux; puis, il finit par se vider lui-même. Toutes ces modifications se passent très rapidement, en l'espace de 1 à 2 minutes,

si l'on emploie de l'exsudat non dilué. En diluant l'exsudat le phénomène s'accomplit plus lentement et nécessite 10 à 15 minutes et même une demi-heure. Si la dilution est poussée assez loin les globules ne meurent plus du tout, mais présentent de beaux mouvements pendant plusieurs heures.

Les altérations que subissent les globules blancs de la part de l'exsudat staphylococcique de lapin, ont été aperçues pour la première fois par Monsieur le Professeur DENYS de Louvain. En comparant l'exsudat obtenu par l'injection dans la plèvre du lapin d'une culture de staphylocoques virulents à celui que fournissait, dans les mêmes conditions, une culture de staphylocoques atténués, ce savant fut frappé de plusieurs différences profondes qui existaient entre eux. Son attention fut particulièrement attirée par l'état des globules blancs. Nombreux dans l'exsudat produit par les staphylocoques atténués, ils y présentaient leur aspect normal, les fines granulations qui masquent leur structure et les déformations qui traduisent leur état de vie. Rares au contraire dans l'exsudat obtenu par les staphylocoques virulents, ils se présentaient comme des vésicules vides, renfermant un noyau nettement visible, et se montraient totalement dépourvus de mouvements amiboïdes.

Frappé de cet état, DENYS supposa que la virulence du staphylocoque pyogène pourrait bien tenir, en partie, à la sécrétion de la substance spéciale, qui détruisait l'action défensive des globules blancs et à laquelle il donna le nom de *leucocidine*. Il confia à VAN DE VELDE le soin de pousser plus avant la solution de ce problème.

Les travaux de VAN DE VELDE (1) montrèrent que la leucocidine est détruite par un chauffage à 58° prolongé pendant 10 minutes. Elle appartient par conséquent à la classe des ferments. Elle n'existe pas seulement dans les exsudats de lapin, mais aussi, quoique plus tardivement et en moindre quantité, dans les milieux de culture. Dans les milieux de culture elle est aussi sécrétée, quoique à un moindre degré, par la variété atténuée du staphylocoque pyogène; mais chez l'animal la variété virulente seule parvient à la produire.

NEISSER et WECHSBERG (2) confirmèrent plus tard la découverte de Denys et les travaux de Van de Velde.

Dosage de la leucocidine.

Tous les exsudats ne présentent pas un égal pouvoir leucocide, ne renferment par conséquent pas une égale quantité de leucocidine. Comme

---

(1) VAN DE VELDE : *Étude sur le mécanisme de la virulence.* La cellule, t. X, 2e fascicule.

(2) NEISSER et WECHSBERG : *Ueber das Staphylotoxin.* Zeitschrift fur Hygiene, 1901.

nous aurons souvent besoin, dans les expériences qui vont suivre, de connaître la richesse des exsudats en leucocidine, nous devons exposer rapidement le procédé que nous avons employé pour doser cette substance. C'est le procédé décrit par Denys et Van de Velde.

Il consiste à préparer une série de dilutions avec l'exsudat dont on veut mesurer la richesse en leucocidine, et à rechercher quelle est la plus faible d'entre elles, qui parvient encore à exercer sur une quantité donnée de globules blancs, une action destructrice complète.

Sur une grande lame porte-objets, portons, au moyen d'une pipette capillaire, une goutte de chacune des dilutions ($\frac{1}{10}$; $\frac{1}{25}$; $\frac{1}{50}$; $\frac{1}{100}$ ..... $\frac{1}{500}$; $\frac{1}{750}$; $\frac{1}{1000}$) d'un exsudat et à chacune de ces gouttes additionnons, au moyen d'une petite anse de platine, une quantité de globules blancs, égale partout.

Après avoir recouvert chaque goutte d'une lamelle couvre-objets, portons le tout sur la platine chaude d'un microscope et observons ce qui va se passer.

Dans les plus fortes concentrations de l'exsudat la destruction des globules s'accomplit avec une grande rapidité, en 1 à 2 minutes.

A l'état moins concentré la leucocidine agit avec plus de lenteur. Les globules conservent pendant un temps plus long leurs mouvements amiboïdes. Ils finissent cependant par s'immobiliser; mais ce n'est que tardivement et lentement que les noyaux apparaissent (5, 10 ou 20 minutes).

A l'état plus dilué encore, l'action profonde de la leucocidine ne s'étend plus à tous les globules. Tandis qu'un certain nombre présentent la dégénérescence caractéristique, les autres continuent à montrer des mouvements. Toutefois ces mouvements ont un aspect particulier et témoignent que, si le leucocyte n'est pas détruit, il subit pourtant un certain malaise sous l'influence de la leucocidine. Les pseudopodes sont très minces et se présentent comme de petites aiguilles. Le globule peut être hérissé d'un grand nombre de ces pointes qu'il pousse et retire avec lenteur.

Dans les dilutions les plus faibles les globules restent tous vivants et présentent des mouvements qui ne diffèrent en rien de ceux que l'on observe dans l'eau physiologique ou dans le sérum.

Entre les dilutions qui n'influencent en aucune façon les globules blancs et celles qui parviennent à en tuer un certain nombre et à altérer les mouvements des autres, il y a place pour des dilutions intermédiaires, qui exercent sur les mouvements amiboïdes *une action stimulante*. Les myélocytes changent de forme avec plus de rapidité. Ils poussent tantôt des prolongements très longs qu'ils retirent précipitamment pour les envoyer dans d'autres directions, tantôt ils s'applatissent en lames extrêmement minces au point que leur noyau devient visible.

Cette stimulation des mouvements amiboïdes par les faibles dilutions de leucocidine est un phénomène que nous avons eu souvent l'occasion d'observer.

En somme, si l'on crée avec un exsudat une série de dilutions telles que la plus faible soit sans action sur eux, tandis que la plus forte les tue rapidement, et si l'on fait une préparation avec chacune de ces dilutions et une trace de globules blancs, on constatera que la plus faible action de la leucocidine se traduit par une excitation des mouvements amiboïdes. Une concentration plus forte tuera un certain nombre de globules et rendra les mouvements des autres plus étroits et plus lents. A dose plus forte encore tous les globules seront détruits, et cela avec d'autant plus de rapidité que la concentration sera plus forte.

Eh bien nous choisissons comme *unité leucocide* dans une pareille échelle de dilutions, la plus faible qui puisse encore amener la destruction générale et complète des globules blancs. Les dilutions plus faibles ne renferment que des fractions d'unité; les plus fortes en renferment des multiples.

Le tableau suivant montre les résultats d'un dosage de leucocidine dans un exsudat :

Dilutions de l'exsudat.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{500}$
Moment de l'observation 5'	Destruction instantanée	Destruction commence après 2' accomplie après 4'	La majorité des globules sont détruits Les autres sont en mouvement.	La majorité des globules sont détruits. Les autres sont en mouvement.	Mouvements ralentis.	Mouvemts excités.	Mouvemts normaux
10'			Destruction complète.	Destruction complète.	Rares détruits. Nombreux mouvements.	Id.	Id.
20'					Les détruits restent rares. Nombreux mouvements.	Id.	Id.
30'					Id.	Id.	Id.

Dans le tableau précédent on voit que la dilution à $\frac{1}{200}$ parvient encore à opérer la destruction complète de tous les globules blancs. La dilution à $\frac{1}{300}$ ne renferme pas assez de leucocidine pour détruire tous les globules. Le plus grand nombre reste en mouvement. Les dilutions à $\frac{1}{400}$ et à $\frac{1}{500}$ ne détruisent plus aucun globule.

Dans cet exemple c'est la dilution à $\frac{1}{200}$ qui représente l'*unité leucocide*. Une goutte de l'exsudat non dilué renferme par conséquent 200 *unités leucocides*.

Nous avons dit plus haut que l'exsudat staphylococcique du lapin est presque toujours coloré en rouge et cela d'une façon plus ou moins intense selon la quantité de sang extravasé. Or, si l'on examine au microscope même les exsudats les plus foncés, ceux qui par conséquent doivent renfermer le plus de sang, on ne rencontre pas de globules rouges. Il est quelquefois possible en regardant avec beaucoup d'attention et en se servant d'étroits diaphragmes, d'apercevoir encore des membranes de globules rouges, complètement vidées de leur contenu, très pâles et à la limite de la visibilité. Les globules rouges ont été dissous.

Cette dissolution a été opérée sous l'influence d'une substance spéciale sécrétée par le staphylocoque et à laquelle on a donné le nom de *staphylolysine*.

La staphylolysine se laisse mettre en évidence au microscope déjà, comme la leucocidine, mais d'une façon bien plus simple encore dans des tubes à réaction.

Si l'on examine au microscope une goutte d'exsudat staphylococcique centrifugé à laquelle on a mélangé des globules rouges lavés de lapin, on n'observe d'abord aucune modification dans la préparation. Les globules rouges en disques isolés ou en piles de monnaie sont bien colorés. En attachant le regard à un élément isolé on s'aperçoit tout à coup qu'il commence à pâlir et cela très rapidement et de plus en plus jusqu'à ce qu'il devienne quasi invisible. On ne voit plus alors que son contour faiblement tracé comme une très légère ligne au crayon. Entre le moment où le globule commence à pâlir et celui où il est devenu quasi invisible, il ne s'écoule que quelques secondes. Tous les globules de la préparation ne subissent pas cette dissolution au même moment, de sorte que pendant plusieurs minutes on peut assister à la décoloration successive des hématies. Lorsque la dissolution a atteint tous les globules un œil non prévenu et non attentif ne verrait plus rien dans la préparation; mais en regardant avec beaucoup de soin on découvre un grand nombre de membranes de globules rouges, se touchant les unes les autres, et formant comme un carrelage.

Lorsque, au lieu d'employer de l'exsudat non dilué, on se sert de solutions étendues, le phénomène de l'hémolyse se traduit encore, mais avec beaucoup de lenteur.

En somme nous assistons ici à un phénomène analogue à celui que développe la leucocidine sur le globule blanc. Ici aussi il s'agit de la destruction du globule avec expulsion de son contenu, et dissolution de celui-ci dans le milieu ambiant, tandis que la membrane est conservée. Il semble qu'il s'agisse d'une action d'hydratation analogue à celle que l'on peut développer en mettant les globules dans de l'eau distillée.

La dissolution de l'hémoglobine dans le liquide ambiant rend possible un autre procédé de recherche de l'hémolysine. Si nous laissons tomber dans un petit tube à réaction 20 gouttes d'exsudat centrifugé auxquelles nous ajoutons 2 gouttes de globules rouges lavés de lapin et si après avoir bien agité le mélange et l'avoir exposé pendant 2 heures à la température de 37°, nous l'abandonnons au repos dans une place froide, nous constaterons après quelques heures que l'exsudat est devenu très rouge, tout à fait transparent, et n'a laissé déposer au fond du tube aucun sédiment. Un tube témoin constitué par de l'eau physiologique, du sérum de lapin ou de la sérosité d'un exsudat obtenu par l'injection de staphylocoques tués, et 2 gouttes de globules rouges, placé dans les mêmes conditions se présente sous un aspect tout à fait différent. Sur un fond de globules rouges intacts s'élève une colonne de liquide transparente et non colorée. Dans le premier tube les globules dissous ont cédé leur matière colorante au liquide ambiant, dans le second ils sont restés intacts.

Si au lieu d'employer de l'exsudat comme tel, nous le diluons au $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{25}$, $\frac{1}{50}$, $\frac{1}{100}$, $\frac{1}{200}$, $\frac{1}{300}$, $\frac{1}{400}$, $\frac{1}{500}$, $\frac{1}{750}$ et $\frac{1}{1000}$, nous constaterons que l'hémolyse s'accomplit à des degrés divers dans les tubes renfermant l'exsudat le moins dilué, tandis qu'elle ne se fait plus du tout dans l'exsudat très dilué.

Dans les tubes où l'hémolyse est poussée à son plus haut degré, non seulement les globules rouges cèdent leur hémoglobine au milieu ambiant, mais les membranes elles-mêmes se dissolvent, et les tubes ne présentent aucun sédiment.

A un degré un peu moins prononcé toute l'hémoglobine quitte les globules, mais les membranes de ceux-ci ne se dissolvent pas. Elles s'agglomèrent au fond du tube à réaction en un petit culot de teinte grise qui se laisse d'autant plus facilement mettre en pièces par agitation que la dissolution a atteint un degré plus avancé, et qui est au contraire d'autant plus compact que celle-ci est moins prononcée.

A un moindre degré encore les globules n'abandonnent pas tous leur hémoglobine. Ils s'accumulent au fond des tubes en une masse compacte plus ou moins teintée de rouge, tandis que le liquide surnageant est moins rouge que dans les dissolutions plus complètes.

Dans les dilutions plus étendues de l'exsudat la dissolution est encore

plus incomplète. Le dépôt de globules est franchement rouge, et le liquide surnageant présente une teinte décroissante, rouge à sa partie inférieure, et de plus en plus pâle au fur et à mesure que l'on s'élève dans les régions supérieures du liquide.

Lorsque les couches supérieures du liquide sont complètement incolores, les couches inférieures présentant la teinte décroissante, nous disons qu'il y a collerette. Celle-ci est d'autant moins élevée que la dissolution est plus faible.

Lorsqu'il n'y a pas trace de dissolution la limite est nettement tranchée entre le fond de globules et la couche liquide.

En somme on peut distinguer différents degrés dans l'action hémolytique développée par la série des dilutions de l'exsudat.

1° Au premier degré la dissolution est complète et le liquide coloré en rouge intense n'abandonne pas de dépôt.

2° Au second degré la dissolution est encore complète, en ce sens que toute l'hémoglobine a quitté les globules rouges, mais il y a un dépôt gris plus ou moins abondant et plus ou moins compact.

3° Au troisième degré la dissolution est incomplète, quoique très prononcée. La colonne de liquide est rouge. Au fond du tube le dépôt est plus ou moins rouge.

4° Au quatrième degré la dissolution est peu prononcée. L'hémoglobine mise en liberté n'est pas assez abondante pour colorer toute la hauteur de la colonne liquide; il y a formation de collerettes d'autant plus élevées que la dissolution est plus accusée. Le fond des tubes est garni d'un abondant dépôt rouge.

5° Enfin toute action hémolytique cesse. La colonne liquide, absolument incolore, se limite nettement du fond rouge des globules intacts.

Dosage du pouvoir hémolytique.

De même que les différents exsudats ne présentent pas le même pouvoir leucocide, de même aussi le pouvoir hémolytique varie d'exsudat à exsudat. Comme il sera nécessaire dans les expériences ultérieures de comparer entre eux les pouvoirs hémolytiques de divers exsudats, il faut se rapporter à une commune mesure. Nous choisissons comme *unité hémolytique* la plus petite dilution d'un exsudat dont 20 gouttes peuvent encore dissoudre complètement 2 gouttes de globules rouges lavés de lapin. Par 2 gouttes de globules rouges nous n'entendons pas 2 gouttes de sang, ni 2 gouttes d'une suspension équivalente au sang pour sa teneur en globules; mais 2 gouttes de la masse globulaire que l'action centrifuge précipite au fond des tubes.

Les globules rouges sont donc employés à l'état de magma de centrifugation, après lavage à l'eau physiologique, et sans être remis en suspension dans un liquide quelconque.

20 gouttes des dilutions sous-indiquées d'exsudat + 2 gouttes de magma de globules rouges.

Dilutions de l'exsudat.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{25}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{750}$	$\frac{1}{1000}$
État de l'hémolyse.	Dissolution complète. Liquide rouge. Pas de fond.	Dissolution complète. Liquide rouge. Pas de fond.	Dissolution complète. Liquide rouge. Petit fond gris peu compact.	Dissolution complète. Liquide rouge. Petit fond gris plus compact.	Dissolution incomplète. Liquide moins rouge. Fond rougeâtre.	Dissolution incomplète. Teinte décroissante, rouge en bas, très atténuée dans les régions supérieures de la colonne liquide. Fond rouge abondant.	Haute collerette. Fond rouge abondant.	Collerette moins élevée. Fond rouge abondant.	A peine une collerette Fond rouge abondant.	O

Le tableau ci-contre nous montre les résultats d'un dosage de l'hémolysine d'un exsudat.

La dissolution est complète jusque dans la dilution à $\frac{1}{100}$ inclusivement. A partir de la dilution $\frac{1}{200}$ tous les globules n'abandonnent plus leur hémoglobine et au fond des tubes se tasse un dépôt rougeâtre.

Dans cet exemple *l'unité hémolytique* est représentée par la dilution $\frac{1}{100}$.

Vingt gouttes d'exsudat non dilué renferment donc 100 unités hémolytiques.

Denys avait déjà remarqué que l'exsudat staphylococcique dissout les hématoblastes de la moelle des os et les globules rouges. Vande Velde l'a signalé dans son travail. Krause en 1890 signale à son tour l'action hémolysante du poison staphylococcique. Neisser et Wechsberg firent de la *staphylolysine* une étude plus complète. Ces auteurs se posèrent entre autres l'importante question de savoir si la destruction des globules rouges et celle des globules blancs sont le fait d'un seul poison, ou bien de deux poisons différents, ou en d'autres termes si la staphylolysine et la leucocidine sont deux substances différentes ou n'en forment qu'une seule. Ils concluent à la dualité des poisons en se basant sur les raisons suivantes :

1° Il faut un chauffage à 56° pour détruire le leucocidine, tandis que la staphylolysine est déjà détruite à 54°.

2° La sécrétion de la leucocidine ne marche pas de pair avec celle de la staphylolysine, de sorte que certains bouillons peuvent être riches dans la première et pauvres dans la seconde de ces substances, et réciproquement.

3° L'épuisement complèt du pouvoir leucocide par les globules blancs laisse persister une certaine partie du pouvoir hémolytique.

L'importance tant théorique que pratique de la question, et le peu de développement donné par les auteurs allemands à la relation des expériences qui les ont amenés à leurs conclusions, nous ont déterminé à confirmer leurs résultats par de nouvelles recherches et à apporter de nouvelles preuves de la dualité de la leucocidine et de la staphylolysine.

Nous nous sommes servi dans toutes les expériences qui forment l'ensemble de ce travail d'exsudats de lapin obtenus par l'injection dans la cavité pleurale de 1 c.c. d'une culture virulente de staphylocoques.

Chez les lapins qui succombent à l'inoculation pleurale, les deux plèvres renferment un exsudat abondant. Mais l'expérience nous ayant démontré que l'exsudat de la plèvre injectée est incomparablement plus riche en leucocidine et en hémolysine que celui de l'autre plèvre, nous nous sommes toujours borné à l'emploi du premier.

Notre étude devant porter sur les poisons staphylococciques il était

nécessaire de débarrasser nos exsudats des staphylocoques vivants que ceux-ci renferment en grand nombre. Nous avons eu d'abord recours à la filtration sur bougie de Chamberland; mais nous avons dû abandonner ce procédé après avoir constaté que l'exsudat en sortait altéré dans sa composition.

Il nous fallait trouver un antiseptique qui, après avoir tué les microbes, se laisserait facilement éloigner de l'exsudat, et ne nuirait pas aux deux poisons que nous nous proposions d'étudier. L'éther nous donna des résultats très inconstants. Dans les exsudats peu colorés il détruisait les microbes tout en n'altèrant que peu l'hémolysine et la leucocidine; mais dans les exsudats très colorés, c'est-à-dire riches en hémoglobine dissoute, il déterminait la formation d'un précipité sale qu'accompagnait la disparition d'une notable quantité des deux poisons.

Le chloroforme au contraire nous donna des résultats très satisfaisants. A la dose de 1 goutte et même moins par centimètre cube d'exsudat, il effectuait, dans l'espace d'une demi-heure, une stérilisation complète que nous avons presque toujours vérifiée au moyen de cultures. L'hémolysine et la leucocidine ne subissaient pas d'altération notable. De plus il se laissait facilement et complètement éloigner de l'exsudat en soumettant celui-ci à la trompe à faire le vide.

Recherches relatives à la dualité de l'hémolysine et de la leucocidine.

Parmi les preuves que nous allons apporter de la dualité de ces poisons, un certain nombre ont déjà été fournies par NEISSER et WECHSBERG ; ce sont : l'absence de concordance dans la teneur de différents bouillons en leucocidine et en hémolysine; la persistance de l'hémolysine après l'épuisement de la leucocidine, la façon différente dont ces deux produits se comportent vis-à-vis de la chaleur. Les autres preuves nous sont personnelles; ce sont la séparation de la leucocidine et de l'hémolysine d'un même exsudat au moyen de la filtration, puis la formation d'anticorps différents.

Première preuve

NEISSER et WECHSBERG ont déjà signalé que dans les bouillons de staphylococoques la production d'hémolysine ne marche pas de pair avec la production de la leucocidine, et qu'un bouillon peut-être très riche dans la première de ces substances et très pauvre dans la seconde, ou inversement. Nous avons souvent fait la même constatation avec les exsudats de lapin. En voici un exemple.

Comparons les pouvoirs hémolytiques de deux exsudats (A et B) dont les pouvoirs leucocides sont sensiblement les mêmes.

Ces deux exsudats détruisent encore complètement les globules blancs, à la dilution de $\frac{1}{100}$, et cela dans l'espace d'une demi-heure. A $\frac{1}{500}$ ils ne parviennent plus à détruire tous les globules introduits.

Vingt gouttes des dilutions sous-indiquées des deux exsudats sont respectivement additionnées de 2 gouttes de globules rouges de lapin. Les tubes bien agités et maintenus pendant $\frac{1}{2}$ heure au bain marie à 37°, sont ensuite abandonnés au repos dans le froid.

Voici comment ils se présentent après 12 heures :

Dilutions.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{25}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$
Exsudat A.	Dissolution complète.	Dissolution complète.	Dissolution complète.	Dissolution complète.	Dissolution complète.
Exsudat B.	Collerette moyenne. Fond rouge.	Petite collerette. Fond rouge.	O.	O.	O.

Tandis que l'exsudat A, dilué à $\frac{1}{200}$, parvient encore à dissoudre complètement 2 gouttes de globules rouges, l'exsudat B, dilué à $\frac{1}{25}$ et même à $\frac{1}{10}$, n'opère qu'une trace de dissolution. La presque totalité des globules se tassent au fond des tubes en formant un culot rouge. L'hémoglobine mise en liberté ne parvient plus à colorer dans toute sa hauteur la colonne liquide. Il y a formation de collerettes.

A la dilution $\frac{1}{50}$ il n'y a déjà plus trace de dissolution.

Pour obtenir avec l'exsudat A une hémolyse aussi incomplète qu'avec l'exsudat B, il aurait fallu porter la dilution beaucoup plus loin à $\frac{1}{500}$ ou à $\frac{1}{1000}$.

Nous voici donc en présence de deux exsudats qui possèdent le même pouvoir leucocide ou en d'autres termes la même quantité de leucocidine et dont les pouvoirs hémolytiques s'écartent considérablement l'un de l'autre. Si la leucocidine et l'hémolysine ne formaient qu'une seule et même substance, on ne conçoit pas pourquoi, placée dans des conditions identiques, elle présenterait de tels écarts dans sa façon d'agir.

Au contraire ces variations s'expliquent parfaitement en admettant qu'*il s'agit de deux poisons différents, sécrétés en quantité plus ou moins abondante par les staphylocoques, selon les conditions favorables ou défavorables qu'ils rencontrent.*

Deuxième preuve.

Epuisement du pouvoir leucocide de l'exsudat par les globules blancs.

Si la leucocidine et la staphylolysine sont deux substances différentes, se fixant l'une sur les globules blancs, l'autre sur les globules rouges, il doit être possible par l'addition en quantité suffisante de globules blancs à de l'exsudat, de dépouiller celui-ci de son pouvoir leucocide, tout en lui conservant son pouvoir hémolytique. C'est là le but des expériences suivantes.

Pour réaliser cet épuisement nous nous sommes adressé à des globules blancs de lapin obtenus par injection dans la plèvre d'une solution de peptone à 20 %, ou encore à des globules blancs humains obtenus en centrifugeant l'urine de malades atteints de cystite tuberculeuse.

Nous avons eu recours aux globules blancs humains pour éviter une difficulté qui se présente souvent avec les exsudats de lapin et qui consiste dans la présence de globules rouges. Malgré toutes les précautions prises pour éviter la rupture de vaisseaux lors de l'injection dans la plèvre du lapin du liquide pyogène, il arrive fréquemment que l'exsudat leucocytaire obtenu soit mêlé d'un certain nombre de globules rouges. La présence de ceux-ci est à éviter dans des expériences où l'on veut conserver dans la plus grande intégrité possible le pouvoir hémolytique. Aussi avons-nous rejeté, dans les expériences de ce genre, tous les exsudats leucocytaires qui renfermaient plus que de rares globules rouges.

Les urines des malades atteints de cystite peuvent fournir beaucoup de leucocytes dépourvus de globules rouges ou n'en renfermant que des traces. Les globules blancs humains succombent au contact de la leucocidine en présentant les mêmes altérations que les globules de lapin. Ils conviennent donc aussi pour épuiser le pouvoir leucocide des exsudats.

Voici une première expérience dans laquelle nous nous sommes servi, pour réaliser l'épuisement, de globules blancs humains. Ces globules ont été lavés plusieurs fois à l'eau physiologique pour les débarrasser des dernières traces d'urine. Après une dernière centrifugation le liquide surnageant est décanté. Les globules formant un dépôt blanc au fond des tubes à centrifuger sont employés comme tels, à l'état de magma, sans être remis en suspension dans un liquide quelconque. Nous voulons éviter ainsi la dilution de notre exsudat.

A 100 gouttes d'une dilution à $\frac{1}{100}$ d'exsudat leucocide nous ajoutons tous les globules blancs retirés de 500 centim. cubes d'une urine purulente. Nous maintenons le mélange au bain marie à 37° pendant 20 minutes. Nous empêchons par des agitations fréquentes la sédimentation des globules, de façon à ce que ceux-ci restent dans un contact aussi intime que possible avec l'exsudat.

Après 20 minutes une préparation microscopique nous montre que la plupart des globules humains sont restés vivants et présentent de beaux

mouvements. Le petit nombre présentent les altérations caractéristiques de la leucocidine.

L'exsudat est alors centrifugé pour éloigner les globules humains, puis son action leucocide est essayée sur les globules blancs de lapin. Ceux-ci, introduits dans une goutte de l'exsudat épuisé, ne manifestent pas la moindre altération après plus d'une demi-heure d'observation, mais présentent au contraire de beaux mouvements.

Le tableau suivant nous montre l'action de l'exsudat sur les globules blancs du lapin avant et après son épuisement par les myélocytes humains.

Dilutions.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{25}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$
Non épuisé.	Destruction en 3 à 4 minutes. +	Destruction en 5 à 10 minutes. +	Après 10 minutes la majorité ont de beaux mouvements. Assez nombreux globules détruits. +	Il y a seulement quelques rares globules détruits après 10 minutes. +
Épuisé.	—	—	—	—

Les signes + indiquent la présence, les signes — l'absence de leucocidine.

L'épuisement de la leucocidine a donc été complet.

Si nous comparons à présent le pouvoir hémolytique de l'exsudat avant et après son épuisement, nous obtenons le tableau suivant :

Dilutions.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{25}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{400}$
Non épuisé.	Dissolution complète. Pas de fond.	Dissolution complète. Pas de fond.	Dissolution complète. Fond gris.	Teinte décroissante vers le haut. Fond rouge.	Petite collerette.	O	O
Épuisé.	Dissolution complète. Petit fond gris.	Teinte décroissante. Fond rouge.	Petite collerette.	Trace de collerette.	O	O	O

Ce tableau montre que l'exsudat dépouillé de leucocidine possède encore à un degré notable le pouvoir de dissoudre les globules rouges. La dilution à $\frac{1}{10}$ parvient encore, en effet, à dissoudre complètement 2 gouttes de globules rouges.

Il montre aussi que le pouvoir hémolytique a subi au contact des globules blancs une diminution considérable. Pour apprécier l'intensité de cette diminution recherchons dans la série « non épuisé » et dans la série « épuisé » les tubes qui s'équivalent par le degré de dissolution.

La dilution à $\frac{1}{25}$ de l'exsudat épuisé correspond exactement à la dilution à $\frac{1}{100}$ du non épuisé, tandis que la dilution à $\frac{1}{10}$ de l'épuisé tombe entre la dilution au $\frac{1}{75}$ et la dilution à $\frac{1}{50}$ du non épuisé, plus près pourtant de cette dernière. S'il est permis de conclure de l'égalité des effets hémolytiques, à l'égalité des quantités d'hémolysine nécessaires à les produire, l'exsudat épuisé renferme encore $\frac{1}{4}$ environ de l'hémolysine primitive. Il y a eu disparition d'une partie de l'hémolysine; nous verrons bientôt quelle en est la cause.

Avant d'interpréter les résultats de cette expérience exposons d'abord les résultats d'une expérience semblable exécutée avec des globules blancs de lapin. Ceux-ci sont employés, après lavages, à l'état de magma de centrifugation.

A 50 gouttes d'une dilution à $\frac{1}{5}$ d'exsudat leucocide nous additionnons 5 gouttes du magma des globules blancs. Nous laissons en contact au bain marie à 37° pendant 1/2 heure en ayant soin d'agiter souvent le tube.

Après centrifugation nous vérifions le pouvoir leucocide. Comme il n'est pas encore complètement éteint nous faisons une nouvelle addition de 5 gouttes de magma de globules blancs et nous répétons la suite des opérations autant de fois qu'il est nécessaire jusqu'à l'épuisement complet du pouvoir leucocide. Cet épuisement nous le considérons comme réalisé lorsque des globules frais introduits dans l'exsudat centrifugé ne manifestent pas le moindre signe d'altération et continuent à présenter de beaux mouvements amiboïdes après une demi-heure d'observation.

Si nous comparons les pouvoirs hémolytiques de l'exsudat épuisé par les globules blancs, et du même exsudat non épuisé, nous obtenons les résultats consignés dans le tableau suivant :

Chaque tube renferme 20 gouttes d'une dilution d'exsudat dans de l'eau physiologique et 2 gouttes de globules rouges.

Dilutions.	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{25}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{750}$	$\frac{1}{1000}$
Exsudat non épuisé.	Dissolution complète.	Dissolution complète.	Dissolution complète. Fond gris.	Dissolution incomplète. Fond rougeâtre.	Collerette moyenne.	Collerette moyenne.	Petite collerette.	A peine trace de collerette.	0	0	0
Exsudat épuisé par globules blancs.	Dissolution complète. Fond gris.	Dissolution *incomplète.* *Fond* rougeâtre.	Collerette moyenne.	*Petite* collerette.	0	0	0	0	0	0	0

Ce tableau montre que l'exsudat dont le pouvoir leucocide a été complétement inactivé, possède encore une partie de son pouvoir hémolytique.

En comparant dans les 2 séries les tubes dont l'action hémolytique s'équivaut, nous constatons que la dilution à $\frac{1}{25}$ de l'exsudat non épuisé renferme autant de ce poison que la dilution à $\frac{1}{5}$ de l'exsudat épuisé. Ce dernier a donc conservé $\frac{1}{5}$ de son hémolysine.

Les deux expériences précédentes fournissent des résultats absolument concordants. Dans les deux cas l'épuisement total du pouvoir leucocide a laissé persister partiellement le pouvoir hémolytique : $\frac{4}{20}$ dans un cas, $\frac{4}{20}$ dans l'autre.

Quelle interprétation faut-il donner à ces résultats?

Admettons un instant l'hypothèse d'un poison unique. La disparition complète du pouvoir leucocide et la conservation partielle du pouvoir hémolytique ne peuvent se concevoir, que si les globules rouges sont encore sensibles à des doses du poison qui restent sans action sur les globules blancs.

Cela cadre-t-il avec ce que les expériences antérieures nous ont appris? En aucun façon. Nous avons vu à la page 421 l'exemple d'un exsudat dont l'action leucocide se manifestait encore à la dilution $\frac{1}{200}$, tandis que son action hémolytique était à peine indiquée à la dilution $\frac{1}{10}$ et faisait complétement défaut à la dilution $\frac{1}{50}$. L'hypothèse d'un poison unique appliqué à cet exsudat ferait, au contraire, conclure à une plus grande sensibilité de la part des globules blancs.

Mais si les globules rouges ne sont pas plus sensibles que les globules blancs, l'hypothèse d'un poison unique devient inacceptable, car on ne voit pas pourquoi ils se dissoudraient alors que la substance leucocide fait totalement défaut. Nous voici donc forcément reportés à l'hypothèse de deux poisons différents. Avec celle-ci, la conservation du pouvoir hémolytique s'explique parfaitement. On conçoit en effet que les globules blancs fixent la substance qui les tue, et laissent subsister l'hémolysine. Mais il reste alors à expliquer la diminution de celle-ci.

Deux hypothèses sont possibles. La première c'est que la diminution de l'hémolysine est due à l'action des rares globules rouges qui accompagnent les globules blancs; la seconde est que les globules blancs peuvent inactiver partie ou totalité de l'hémolysine.

La première de ces hypothèses n'est pas soutenable dans les conditions de l'expérience précédente. Les globules rouges étaient, comme l'examen microscopique permettait de le constater, en nombre extrêmement petit. Ils n'étaient même pas en quantité suffisante pour donner à l'exsudat au sein duquel ils se dissolvaient, la moindre coloration appréciable. Pour que ces rares globules aient pu consommer les $\frac{4}{5}$ de l'hémo-

lysine de l'exsudat, il eut été nécessaire qu'ils aient pu fixer une quantité d'hémolysine bien des fois supérieure à celle qui est nécessaire à les dissoudre. Nous verrons dans des expériences ultérieures (page 468) qu'il n'en est pas ainsi. Les globules rouges ne peuvent pas fixer des multiples de la quantité d'hémolysine nécessaire pour opérer leur dissolution.

La première hypothèse n'étant pas admissible nous devions vérifier la seconde en recherchant si les globules blancs sont capables de détruire l'hémolysine.

Dans ce but nous disposons de trois parts d'un même exsudat chloroformé.

La première est constituée par l'exsudat non modifié.

Dans la seconde le pouvoir leucocide a été épuisé par addition de globules blancs.

La troisième est préparée de la façon suivante : à de l'exsudat dont le pouvoir leucocide a été préalablement épuisé, nous ajoutons des globules blancs frais. Le mélange fréquemment agité est maintenu au bain marie à 37° pendant une heure. Nous nous sommes assurés par des préparations faites au cours de l'expérience, que les globules blancs restaient en vie et présentaient de beaux mouvements. Après une heure de contact les globules sont éloignés par l'action centrifuge, et l'exsudat décanté constitue notre troisième part.

Si nous comparons la puissance hémolytique des trois parts de l'exsudat nous obtenons les résultats indiqués dans le tableau suivant :

Dilutions.	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{25}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{500}$
Exsudat non épuisé.	Dissolution complète.	Dissolution complète.	Dissolution complète, mais fond gris.	Incomplète. Fond rougeâtre.	Collerette moyenne.	Collerette moyenne.	Petite collerette.	A peine trace de collerette.	O
Exsudat épuisé par des leucocytes.	Dissolution complète mais fond gris.	Dissolution incomplète. Fond rougeâtre.	Collerette moyenne.	Petite collerette.	O	O	O	O	O
Exsudat surépuisé par des leucocytes.	Haute collerette.	Collerette.	Petite collerette.	O	O	O	O	O	O

La première colonne horizontale montre le pouvoir hémolytique de l'exsudat non modifié ; la seconde celui de l'exsudat dont le pouvoir leucocide a été complètement épuisé ; la troisième celui de l'exsudat auquel, après épuisement préalable de la leucocidine, de nouveaux globules blancs ont été ajoutés pour tenter d'affaiblir son pouvoir hémolytique.

Si nous comparons entre-elles les deux dernières colonnes nous constatons que la dissolution des globules rouges est beaucoup plus prononcée dans la seconde que dans la troisième. En effet tandis que la dilution au $\frac{1}{5}$ de l'exsudat simplement épuisé parvient encore à dissoudre complètement 2 gouttes de globules rouges, la même dilution de l'exsudat surépuisé, c'est-à-dire de l'exsudat dans lequel, après épuisement du pouvoir leucocide, des globules blancs sont restés en vie pendant une heure encore, ne parvient plus à dissoudre qu'une si petite quantité de globules rouges, que l'hémoglobine mise en liberté ne suffit plus pour colorer toute la hauteur de la colonne liquide. Il y a formation d'une haute collerette.

Si nous recherchons dans la deuxième colonne horizontale quelle est la dilution de l'exsudat simplement épuisé qui correspond pour sa puissance hémolytique à la dilution à $\frac{1}{5}$ de l'exsudat surépuisé, nous trouvons que ce serait une dilution intermédiaire entre le $\frac{1}{10}$ et le $\frac{1}{25}$. La dilution à $\frac{1}{10}$ a un pouvoir hémolytique trop grand puisqu'elle entraîne la dissolution presque totale du sang introduit ; la dilution à $\frac{1}{25}$ au contraire est un peu trop faible puisqu'elle ne donne qu'une collerette de moyenne hauteur.

On peut, sans craindre de se tromper beaucoup, admettre qu'une dilution à $\frac{1}{20}$ de l'exsudat simplement épuisé correspondrait assez exactement quant au pouvoir hémolytique à la dilution à $\frac{1}{5}$ de l'exsudat surépuisé. C'est-à-dire en d'autres termes que la nouvelle addition de globules blancs à l'exsudat déjà dépouillé de sa leucocidine, lui enlève encore les 3/4 de l'hémolysine qui lui restait.

Cette expérience plusieurs fois répétée, nous a constamment donné les mêmes résultats. Elle nous permet de conclure que les globules blancs possèdent la propriété de détruire l'hémolysine. Et nous trouvons dans ce fait l'explication naturelle de la disparition d'une partie du pouvoir hémolytique au cours des opérations qui ont pour but de dépouiller un exsudat de son pouvoir leucocide.

Cette disparition est tout simplement le résultat de l'action exercée par les globules blancs sur la staphylolysine.

Ce fait met nettement en lumière la propriété, signalée en 1903 par CAPPELLANI (1), que possèdent les globules blancs de détruire les poisons microbiens.

---

(1) CAPPELLANI : *Dell'azione protettiva dei leucociti contro i veleni batterici.* La Riforma medica 1903 Referat in Centr. Bl. für Bakt. XXXVI 14/17 1905, p. 519.

Pour démontrer cette propriété nouvelle CAPPELLANI provoquait chez des cobayes un épanchement purulent, et cela au moyen d'une injection de staphylocoques tués ou d'essence de thérébentine. S'il injectait ensuite à ces animaux une dose mortelle de toxine diphtérique, ceux-ci survivaient ou succombaient, selon que l'injection était pratiquée dans le foyer purulent ou en dehors de lui. L'injection dans le foyer purulent laissait les animaux en vie, tandis que pratiquée ailleurs elle les tuait. Pour expliquer ces faits CAPPELLANI admet l'hypothèse que les globules blancs exercent sur la toxine diphtérique une action destructrice.

L'hypothèse de CAPPELLANI se trouve clairement démontrée par nos recherches.

Il serait intéressant de préciser le mécanisme de cette destruction et notamment de rechercher si les leucocytes détruisent la staphylolysine en l'incorporant et en la digérant à la façon d'un aliment soluble, ou bien s'ils sécrétent et excrétent une antitoxine, qui, sortie de leur corps, va neutraliser le poison dans le liquide ambiant.

Résumons brièvement les conclusions des expériences précédentes. *On peut par des additions successives de globules blancs, dépouiller totalement un exsudat de son pouvoir leucocide, tout en lui laissant une partie de son pouvoir hémolytique. Ce fait ne trouve son explication que dans l'hypothèse de deux poisons différents, dont l'un* (leucocidine) *est déjà complètement détruit par les globules blancs, alors que l'autre* (hémolysine) *ne l'est encore que partiellement.*

L'addition ultérieure de myélocytes à l'exsudat déjà épuisé entraine encore un affaiblissement du pouvoir hémolytique. Ce dernier fait établit l'existence d'une propriété des leucocytes, encore peu connue, à savoir celle de détruire les toxines microbiennes.

Troisième preuve.

Action de la chaleur sur la leucocidine et sur la staphylolysine.

Pour que les expériences de ce genre puissent permettre de conclure à la dualité des poisons, il faudrait que les températures nécessaires à rendre ceux-ci inactifs soient différentes, et l'écart qui les sépare assez grand. Un petit écart dans les températures d'inactivation ne permettrait pas de conclure à deux substances différentes. On pourrait supposer qu'un poison unique subit par le fait du chauffage une altération telle qu'il ne puisse plus exercer son action sur des éléments plus résistants, tout en conservant la propriété de détruire des éléments plus sensibles.

Or, l'expérience nous a montré que la leucocidine et l'hémolysine se laissent inactiver par des températures très voisines l'une de l'autre.

Un chauffage à 54° pendant 10 minutes n'altère pas sensiblement le pouvoir leucocide, mais diminue déjà notablement le pouvoir hémolytique.

Un chauffage à 56° prolongé pendant 10 minutes rallentit notablement l'action leucocide, et réduit l'action hémolytique à l'état de trace.

A 56° pendant 20 minutes tout le pouvoir leucocide disparait, mais il reste encore une trace d'action hémolylitique. Ce n'est que par un chauffage à 58° prolongé pendant 20 minutes que toute trace d'hémolysine disparait.

La staphylolysine et la leucocidine ne se comportent donc pas vis-à-vis du chauffage d'une façon identique. La première commence à s'altérer à une température plus basse que la seconde; mais par contre elle exige pour sa disparition complète une température plus élevée.

Cependant les différences sont si étroites qu'il ne serait pas permis de conclure par elles seules à la dualité des poisons.

Quatrième preuve

Filtration.

Lorsque l'on fait passer un exsudat staphylococcique de lapin à travers une bougie *Chamberland* neuve, on constate que la leucocidine a considérablement diminué dans la portion filtrée, tandis que l'hémolysine y est retrouvée presque en totalité. Cette constatation nous fournira un nouveau moyen de démontrer la dualité des poisons, si nous arrivons par là à débarrasser complètement un exsudat de sa leucocidine tout en lui conservant dans sa plus complète intégrité possible son hémolysine. Nous avons atteint ce but en ne recueillant que les premières portions de l'exsudat filtré.

En voici un exemple :

D'un exsudat chloroformé, puis débarrassé du chloroforme par la trompe à eau, il est fait deux parts. L'une reste comme telle; l'autre est passée à travers une bougie *Chamberland*. Les vingt premières gouttes filtrées sont seules recueillies et servent aux expériences suivantes qui ont pour objet :

1° La recherche du pouvoir leucocide.

2° La recherche du pouvoir hémolytique, dans la portion non filtrée et dans la portion filtrée de l'exsudat.

1° Recherche du pouvoir leucocide dans la portion non filtrée et dans la portion filtrée de l'exsudat.

Dilutions.	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{25}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$
Exsudat non filtré.	Destruction complète en une minute. +	Destruction complète en une minute. +	Destruction complète entre 2 et 3 minntes. +	Destruction complète en 5 minutes. +	Destruction complète en 5 minutes +	Après 10 min. un petit nombre de globules sont détruits Le plus grand nombre reste en vie. +	Tous les globules restent en vie. —
Exsudat filtré.	Tous les globules restent en vie. —	—	—	—	—	—	—

Les signes + indiquent la présence, les signes — l'absence de leucocidine.

Le tableau précédent montre que l'exsudat non filtré est riche en leucocidine. Dilué au $\frac{1}{100}$ cet exsudat détruit encore rapidement tous les globules qui y sont introduits. Au $\frac{1}{200}$ la destruction n'est plus générale, mais se limite aux globules les moins résistants. A $\frac{1}{500}$ l'exsudat est sans action sur les globules blancs.

La portion filtrée de cet exsudat se montre totalement dépourvue d'action leucocide. Les globules blancs y conservent leurs mouvements comme dans la dilution à $\frac{1}{500}$ de l'exsudat non filtré.

Cette expérience montre que la filtration a eu pour effet de dépouiller totalement l'exsudat de son pouvoir leucocide.

Examinons à présent le pouvoir hémolytique des deux portions de l'exsudat. Pour cela nous faisons avec les 2 parts d'exsudat des dilutions à $\frac{1}{10}$; $\frac{1}{25}$; $\frac{1}{50}$ etc. dans de l'eau physiologique. A 20 gouttes de chacune de ces dilutions nous ajoutons 2 gouttes de magma de globules rouges lavés. Les tubes secoués puis chauffés $\frac{1}{2}$ heure à 37°, sont ensuite abandonnés au repos dans la glacière et les résultats sont notés après 12 heures.

Ils se traduisent de la façon suivante :

Dilutions.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{25}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{750}$	$\frac{1}{1000}$
Exsudat non filtré.	Dissolution complète.	Dissolution complète. Fond gris se laissant *facilement* mettre en pièces.	Dissolution complète. Fond gris plus compact.	Dissolution incomplète Fond rougeâtre.	Teinte décroissante vers le haut. Fond rouge.	Collerette.	Petite collerette.	Trace de collerette.	0	0
Exsudat filtré.	id.	id.	id.	id.	id.	Trace de collerette.	0	0	0	0

L'exsudat filtré et l'exsudat non filtré ne montrent pas jusqu'à la dilution à $\frac{1}{200}$ de différence sensible. Celle-ci apparaît seulement à la dilution $\frac{1}{500}$ et se traduit par une faible diminution du pouvoir hémolytique.

La portion filtrée de l'exsudat a donc conservé la quasi totalité de son pouvoir hémolytique. Par contre elle a été complètement dépouillée de son pouvoir leucocide. Ce fait est inexplicable avec l'hypothèse d'un poison unique. Il concorde au contraire parfaitement avec l'hypothèse de deux poisons différents, dont l'un à molécules plus volumineuses ne passe pas à travers le filtre, tandis que l'autre à molécules plus ténues passe parfaitement.

Le filtre Chamberland nous a permis de réaliser la séparation de la leucocidine et de la staphylolysine d'une façon bien plus parfaite que l'absorption du premier de ces poisons par les globules blancs. Il nous a fourni ainsi une preuve plus convainquante encore de la dualité de ces toxines.

Cinquième preuve.

Les expériences précédentes nous ont déjà surabondamment prouvé que la leucocidine et la staphylolysine sont deux substances différentes. Nous voulons cependant encore apporter une dernière preuve de cette vérité.

On sait que les anticorps sont strictement spécifiques et qu'ils ne peuvent neutraliser que leurs antigènes respectifs.

Ainsi le sérum antidiphtérique peut neutraliser la toxine diphtérique, mais n'a aucune action sur la toxine tétanique, et réciproquement.

Cela étant, si nous parvenons à établir que l'antileucocidine et l'antistaphylolysine sont deux substances différentes, nous aurons par le fait même apporté une nouvelle preuve que leurs antigènes respectifs, la leucocidine et la staphylolysine, sont également deux substances différentes.

Etablir la dualité de l'antileucocidine et de l'antistaphylolysine, voilà précisément l'objet du chapitre suivant.

CHAPITRE II.

Les anticorps des poisons staphylococciques sont deux substances différentes : l'antileucocidine et l'antistaphylolysine.

En 1895, DENYS et VAN DE VELDE signalèrent pour la première fois la présence dans le sérum des lapins vaccinés contre le staphylocoque pyogène, d'une substance thermolabile, qui neutralise l'action de la leucocidine, et à laquelle ils donnèrent le nom d'*antileucocidine*. Ils montrèrent que cette substance existe en grande quantité chez le lapin vacciné contre le staphylocoque pyogène, mais fait défaut chez les animaux

immunisés contre le streptocoque ou le colibacille. Elle paraît donc bien être une substance spécifique. Ces auteurs font ressortir dans leur travail l'importance du rôle de l'antileucocidine dans la résistance qu'oppose le lapin vacciné à l'infection staphylococcique.

Par l'injection au lapin, de cultures filtrées de staphylocoques pyogènes, Neisser et Wechsberg, déterminèrent l'apparition dans le sérum de cet animal d'une propriété nouvelle : celle de neutraliser l'action dissolvante qu'exerce sur les globules rouges la staphylotoxine. Ils rattachent cette propriété à l'existence dans le sérum des animaux vaccinés d'une substance à laquelle ils donnent le nom d'*antistaphylolysine*.

L'antistaphylolysine et l'antileucocidine sont-elles deux substances différentes, ou bien ne constituent-elles qu'une seule et même substance à double pouvoir antitoxique et capable de neutraliser aussi bien la staphylolysine que la leucocidine?

Cette question n'a pas été, que nous sachions, jusqu'ici résolue.

Pour établir la dualité de l'antileucocidine et de l'antistaphylolysine, le moyen qui paraît le plus simple, est bien de vacciner un groupe d'animaux avec de la leucocidine seule, et un autre groupe avec de la staphylolysine seule, et d'examiner ensuite si les anticorps obtenus sont strictement spécifiques vis-à-vis de leurs antigènes, c'est-à-dire si le sérum du premier groupe neutralise la leucocidine sans altérer l'hémolysine, et si le sérum du second neutralise au contraire l'hémolysine tout en laissant intacte la leucocidine.

Pour pouvoir réaliser ce programme il eut nécessairement fallu pouvoir préparer de la leucocidine exempte d'hémolysine, et de l'hémolysine pure de leucocidine. C'est là une sérieuse difficulté. Les exsudats de lapin, en effet, comme aussi les bouillons de culture, renferment les deux poisons. Est-il possible de les séparer?

Nous avons vu que la filtration sur bougie Chamberland retient complètement la leucocidine des premières portions filtrées, tout en laissant passer, presque dans sa totalité, l'hémolysine. Il est donc possible de préparer de l'hémolysine exempte de leucocidine.

On le pourrait encore en épuisant totalement le pouvoir leucocide par des globules blancs; mais ce procédé aurait le désavantage d'affaiblir considérablement la teneur de l'exsudat en staphylolysine.

Pour préparer de la leucocidine exempte d'hémolysine un seul procédé nous paraît applicable : c'est l'épuisement du pouvoir hémolytique par les globules rouges. Or, d'après Neisser et Wechsberg, cet épuisement entraîne aussi la disparition de la leucocidine.

En raison des difficultés que présente la séparation de la leucocidine, et du peu de temps dont nous disposions, nous avons renoncé momentanément à cette façon de procéder, et nous avons cherché à donner la

preuve de la dualité de l'antileucocidine et de l'antistaphylolysine par une autre voie.

Nous vaccinons des animaux avec l'exsudat complet, c'est-à-dire avec un mélange de leucocidine et de staphylolysine. Leur sérum renferme donc les deux anticorps à la fois.

Si nous faisons agir sur le sérum à double pouvoir anti, de l'hémolysine exempte de leucocidine (ce que la filtration nous fournit facilement) nous parviendrons à dépouiller le sérum de son antihémolysine, tout en lui laissant l'intégrité de son antileucocidine.

C'est ainsi que se passeront les choses si l'antihémolysine et l'antileucocidine sont deux substances différentes. Si au contraire ce sont une seule et même substance, l'épuisement par l'hémolysine fera disparaître à la fois l'antihémolysine et l'antileucocidine.

Tel est le plan que nous avons suivi dans les expériences qui suivent.

Nous avons vacciné un groupe de cinq lapins avec de l'exsudat complet dont nous avions détruit les microbes par addition de chloroforme. La première injection qui a été faite avec des doses différentes pour les différents animaux, a amené chez tous une perte de poids considérable. Chez l'un d'eux il s'est développé à l'endroit de l'injection une petite induration qui a duré quelques jours. Chez un autre il s'est formé une escharre longue à cicatriser. Les autres n'ont pas présenté d'accidents locaux. Les animaux n'ont regagné que lentement leur poids initial.

La seconde injection a amené une perte de poids moins prononcée et vite regagnée. Les réactions locales ont été nulles ou moins prononcées.

La troisième injection a été quasi sans effet sur le poids des animaux.

Voici au reste deux exemples de ces vaccinations :

Dates.	Lapin 22		Lapin 23	
	Poids.	Injections.	Poids.	Injections.
7-4-08	2.320	0,5 c.c.	2.150	0,25 c.c.
8	2.075	Plaque de nécrose pas guérie le 13-5.	1.950	Pas de gonflement.
10	2.000		1.850	
11	1.925		1.825	
20-4-08	2.300	0,5 c.c.	2.000	0,25 c.c.
24	2.250	Gonflement.	1.950	Gonflement.
1-5-08	2.450	1 c.c.	2.100	0,5 c.c.
2-5	2.300	Rien.	2.050	Rien.
5	2.500		2.050	
9	2.600		2.100	
13	2.750	Saigné à blanc.	2.150	

Lorsque nos animaux eurent reçu trois injections, nous avons recherché si leur sérum renfermait de l'antileucocidine et de l'antihémolysine.

Recherche de l'antileucocidine dans le sérum des animaux vaccinés.

Nous avons suivi le procédé indiqué par DENYS et VAN DE VELDE.

Il consiste a rechercher si le sérum donné est capable d'empêcher l'action nocive que la leucocidine exerce sur les globules blancs. Pour procéder a cette recherche il faut pouvoir disposer :

1° d'une solution de leucocidine.

2° de globules blancs.

La solution de leucocidine nous est fournie par l'exsudat staphylococcique stérilisé par le chloroforme, puis débarrassé de celui-ci.

Les globules blancs sont recueillis dans la plèvre d'un lapin injecté 12 heures auparavant avec 10 cc. d'une solution de peptone à 20 %.

Si à une goutte d'exsudat leucocide on ajoute une trace de globules blancs, et si l'on porte la préparation sur la platine d'un microscope chauffé, on ne tarde pas à voir survenir les altérations que nous avons décrites dans le chapitre précédent, et qui caractérisent la présence de la leucocidine. Si à la goutte d'exsudat leucocide on ajoute une goutte de sérum de lapin neuf, les globules blancs introduits dans le mélange meurent de la même façon et aussi rapidement que ceux qui sont introduits dans l'exsudat pur. Mais si au lieu de sérum de lapin neuf c'est du sérum de lapin vacciné qui est mélangé à la leucocidine, les globules blancs ne meurent plus dans ce mélange. Ils y vivent au contraire très à l'aise, et pendant très longtemps en présentant de beaux mouvements.

Cette expérience montre que le sérum des animaux vaccinés est doué d'une propriété nouvelle, celle de neutraliser l'action de la leucocidine sur les globules blancs. Cette propriété il la doit à la présence de l'antileucocidine.

Pour nous représenter le degré de vaccination de nos animaux nous avons été amené à doser l'antileucocidine de leurs sérums. C'est encore au procédé de DENYS et VAN DE VELDE que nous avons eu recours.

Pour opérer ce dosage on recherche quelle est la quantité de sérum nécessaire pour neutraliser complètement l'action d'un exsudat leucocide de puissance connue. Si tous les exsudats renfermaient la même quantité de leucocidine, ils constitueraient une mesure fixe, et les résultats des dosages opérés avec divers exsudats seraient comparables entre eux. Mais nous savons déjà qu'il n'en est pas ainsi, que tel exsudat est très riche en leuçocidine, tel autre au contraire très pauvre. Aussi avant de procéder au dosage de l'antileucocidine, est-il donc nécessaire de titrer l'exsudat leucocide qui servira de point comparaison.

Pour effectuer le dosage du sérum du lapin 22 nous disposions d'un exsudat qui à la dilution à $\frac{1}{50}$ tuait en 10 minutes tous les globules introduits. Dans la dilution à $\frac{1}{100}$ un certain nombre de globules survivaient. L'exsudat non dilué renfermait donc 50 unités leucocides par goutte.

Or à volume égal le sérum dilué au $\frac{1}{10}$ neutralisait exactement l'exsudat également dilué au $\frac{1}{10}$. Dilué à $\frac{1}{25}$ le sérum ne parvenait plus à neutraliser totalement l'exsudat à $\frac{1}{10}$, et un certain nombre de globules finissaient par mourir dans le mélange.

Le sérum, neutralisant à dilution égale un exsudat qui renfermait par goutte 50 unités leucocides, renfermait donc lui aussi par goutte 50 unités antileucocides.

Le sérum du lapin 23 fut dosé au moyen d'un exsudat qui renfermait seulement 25 unités leucocides par goutte, c'est-à-dire, dont la dilution à $\frac{1}{25}$ tuait encore tous les globules blancs.

Or une goutte d'une dilution de sérum à $\frac{1}{10}$ neutralisait complètement une goutte de l'exsudat dilué à $\frac{1}{5}$. C'est-à-dire, en d'autres termes, qu'une goutte de la dilution au $\frac{1}{10}$ neutralisait 5 unités leucocides.

Le sérum non dilué possédait donc 50 unités antileucocides par goutte.

Recherche de l'antihémolysine dans le sérum des animaux vaccinés.

Cette recherche nécessite également 2 réactifs :

1° de la staphylolysine.

2° des globules rouges de lapin.

La staphylolysine est fournie par l'exsudat staphylococcique.

Les globules rouges sont fournis par du sang de lapin défibriné puis centrifugé. Après décantation du sérum les globules sont lavés à l'eau physiologique, puis de nouveau centrifugés. L'eau de lavage ayant été décantée, les globules rouges sont employés à l'état de magma.

Si dans un petit tube à réaction nous laissons tomber deux gouttes d'exsudat hémolytique, dix-huit gouttes d'eau physiologique et deux gouttes de globules rouges, et si, après avoir soumis le mélange bien agité à la température de 37° pendant une demi-heure, nous l'abandonnons au repos dans une place froide, nous constaterons après quelques heures que les globules rouges se sont complètement dissous dans l'exsudat.

Si avant l'addition des globules rouges, nous introduisons dans un tube de composition identique, quatre gouttes de sérum d'un lapin neuf, la dissolution des globules rouges se fera tout aussi complètement.

Mais si au lieu de sérum de lapin neuf, c'est du sérum de lapin vacciné que nous additionnons au mélange d'hémolysine et de globules rouges, la dissolution ne se fera plus du tout.

Cette expérience montre que le sérum du lapin vacciné jouit d'une

propriété nouvelle, celle de neutraliser le pouvoir hémolytique de l'exsudat. Cette propriété le sérum la doit à une substance spéciale qui a reçu le nom d'antistaphylolysine.

Pour nous représenter la richesse du sérum des lapins vaccinés en antihémolysine, nous recourons au dosage de cette substance, comme nous l'avons fait pour l'antileucocidine. Cette opération consiste à rechercher quelle est la quantité de sérum nécessaire et suffisante pour neutraliser l'effet hémolytique d'un exsudat de puissance connue. Elle exige donc, de même que le dosage de l'antileucocidine, une opération préalable, qui est la titration de l'hémolysine dans l'exsudat employé. Nous avons vu antérieurement comment elle s'effectue. L'essai du pouvoir hémolytique de l'exsudat qui nous a servi de point de comparaison pour le dosage du sérum 22, nous a donné les résultats suivants :

20 gouttes des dilutions d'exsudat sous-indiquées + 2 gouttes de globules rouges.

Dilutions.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{25}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{400}$
	Dissolution complète.	Dissolution complète.	Dissolution complète. Fond gris.	Teinte décroissante. Fond rouge.	Collerette.	0	0

La dilution à $\frac{1}{50}$ opérant encore une dissolution complète, tandis que la dilution à $\frac{1}{100}$ ne parvient plus à ce résultat, c'est la première qui représente l'unité hémolytique. Vingt gouttes d'exsudat non dilué renferment par conséquent 50 unités hémolytiques. Une goutte représente donc 2,5 unités hémolytiques.

Le tableau suivant nous montre la teneur du sérum 22 en antihémolysine :

Nos des tubes.	1	2	3
Exsudat.	2 gouttes.	2 gouttes.	2 gouttes.
Sérum 22.	4 »	2 »	1 »
Eau physiologique.	14 »	16 »	17 »
Contact 1/2 heure à 37° puis addition de			
Globules rouges.	2 gouttes.	2 gouttes.	2 gouttes.
Résultats.	0	0	Dissolution incomplète. Fond rouge.

Cette expérience comprend 3 tubes. Chacun d'eux renferme la même quantité d'exsudat hémolytique (2 gouttes), dilué dans la même quantité de liquide (20 gouttes). Mais les 3 tubes renferment des quantités inégales de sérum : 4, 2 et 1 gouttes.

Avant l'addition des globules rouges les tubes sont placés au bain marie à 37° pour laisser le temps à l'antihémolysine de se fixer totalement sur l'hémolysine.

Après l'addition des globules rouges les tubes sont de nouveau placés au bain marie pour une demi-heure. Puis ils sont abandonnés au repos à la glacière. Les résultats sont notés après 12 heures.

Ils montrent que la quantité de sérum contenue dans les 2 premiers tubes a neutralisé complètement l'hémolysine; tandis que celle du dernier tube n'a opéré qu'une neutralisation partielle. La plus petite quantité de sérum capable de neutraliser l'action hémolytique de deux gouttes d'exsudat (ou 5 unités hémolytiques) est donc égale à deux gouttes.

Deux gouttes de sérum renferment par conséquent 5 unités antihémolytiques. Une goutte de sérum représente donc 2,5 unités antihémolytiques.

Les expériences précédentes nous ont montré que le sérum de nos animaux vaccinés présente un pouvoir antileucocide et un pouvoir antihémolytique considérables.

Nous allons à présent rechercher si ces deux propriétés sont le fait d'une seule et même substance, ou bien si elles appartiennent à deux substances différentes. Pour cela épuisons au moyen de la staphylolysine seule le sérum d'un animal vacciné, de façon à le dépouiller complètement de son pouvoir antistaphylolytique, et recherchons ensuite si cette opération lui a laissé ou lui a ôté son pouvoir antileucocide.

La filtration sur bougie Chamberland nous fournit un exsudat pur de toute trace appréciable de leucocidine, mais riche par contre en hémolysine. En effet les globules blancs introduits dans une goutte d'exsudat filtré non dilué ne montrent pas la moindre altération après ½ heure d'observation; tous présentent de beaux mouvements.

Le tableau suivant renseigne sur le pouvoir hémolytique de l'exsudat filtré :

Dilutions.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{25}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{400}$
Exsudat filtré.	Dissolution complète.	Dissolution complète. Petit fond gris facile à mettre en pièces.	Dissolution complète. Fond gris plus compact.	Dissolution incomplète. Liquide moins rouge. Fond rougeâtre.	Dissolution incomplète. Teinte décroissante. Fond rouge.	Trace de collerette.	O

La dilution à $\frac{1}{50}$ de l'exsudat opérant encore une dissolution complète représente l'unité. Le pouvoir hémolytique de 20 gouttes d'exsudat non dilué est de 50 unités. Une goutte d'exsudat représente donc 2,5 unités hémolytiques.

Le pouvoir antihémolytique de notre sérum étant précisément de 2,5 unités antihémolytiques par goutte, exsudat et sérum, mélangés en quantités égales, doivent se neutraliser l'un l'autre exactement. Un tel mélange ne renfermera plus d'antihémolysine, ou en renfermera seulement encore des traces.

A plus forte raison, si au lieu d'ajouter au sérum son volume d'exsudat, nous lui en ajoutons 2 ou 4 fois plus, l'antihémolysine sera complètement détruite.

C'est ce que nous avons réalisé dans l'expérience suivante :

Nos des tubes.	1	2	3
Sérum 23	2 gouttes.	2 gouttes.	2 gouttes.
Staphylolysine.	2 gouttes.	4 gouttes.	8 gouttes.
Eau physiologique.	16 gouttes.	14 gouttes.	10 gouttes.
Contact 1/2 heure à 37° puis addition de			
Globules rouges.	2 gouttes.	2 gouttes.	2 gouttes.
Nouveau contact 1/2 heure à 37°.			
Résultats après 12 heures.	O	Dissolution incomplète. Liquide rouge. Fond rouge.	Dissolution quasi complète. Petit fond rouge.

Cette expérience comprend 3 tubes.

Tous trois renferment la même quantité de sérum, et par conséquent d'anticorps. Mais ils sont additionnés de quantités différentes d'hémolysine.

Le premier en reçoit 2 gouttes, c'est-à-dire la quantité exactement nécessaire pour neutraliser complètement l'antihémolysine. Les deux autres en reçoivent respectivement 4 et 8 gouttes, c'est-à-dire une quantité 2 fois et 4 fois plus grande.

Pour laisser à la neutralisation le temps de s'opérer, nous maintenons les mélanges de toxine et d'antitoxine à la température de 37° pendant une demi-heure.

Si nos calculs sont exacts aucun des tubes ne doit plus renfermer après ce temps d'antihémolysine. Dans le premier tube elle doit avoir été

neutralisée exactement, ou à peu de chose près ; dans les deux autres il doit même y avoir un excédent d'hémolysine, celle-ci ayant été ajoutée en excès.

Pour vérifier s'il en est bien ainsi nous ajoutons à chacun des trois tubes 2 gouttes de globules rouges. Après agitation les tubes sont chauffés à 37° pendant une demi-heure, puis abandonnés au repos à la glacière.

Or les résultats, notés après 12 heures, confirment pleinement nos prévisions.

Dans le tube 1 il n'y a pas eu de dissolution, l'exsudat et le sérum s'étant neutralisés exactement ; dans les 2 autres tubes au contraire la dissolution a eu lieu, preuve que l'antihémolysine était complètement détruite.

Cette expérience nous met donc en possession d'un sérum dont le pouvoir antihémolytique a été complètement aboli.

Examinons à présent ce qu'il est advenu de son pouvoir antileucocide, si celui-ci a également disparu, ou si au contraire il a subsisté, et dans quelle mesure.

Le liquide rouge du tube 3 est décanté. Il représente une dilution au $\frac{1}{10}$ de sérum 23, dépouillé de son antihémolysine.

Nous préparons, pour lui être comparé, une dilution au $\frac{1}{10}$ du sérum 23 complet.

Nous dosons ensuite le pouvoir antileucocide de ces deux parts de sérum, c'est-à-dire que nous recherchons quelle quantité de leucocidine elles sont capables de neutraliser.

L'exsudat leucocide dont nous disposons à cet effet renferme 25 unités par goutte, c'est-à-dire qu'il parvient encore à détruire tous les globules blancs à la dilution $\frac{1}{25}$, mais plus à la dilution au $\frac{1}{50}$.

De cet exsudat il est fait diverses dilutions $\frac{1}{2}$; $\frac{1}{3}$; $\frac{1}{4}$; $\frac{1}{5}$; $\frac{1}{10}$. Une goutte de chacune de ces dilutions est additionnée sur un porte-objet, avec 1 goutte des sérums qu'il s'agit de comparer. Après un contact de 2 minutes des globules blancs sont ajoutés au mélange. L'examen des préparations à la chambre chaude donne les résultats suivants après $\frac{1}{2}$ heure d'observation :

Dissolution de l'exsudat.	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{10}$
Sérum entier dilué à 1/10.	Un certain nombre de globules sont détruits. +	De rares globules sont détruits. +	De très rares globules sont détruits. +	Tous les globules restent en vie. —	Tous les globules restent en vie. —
Sérum dépouillé de l'antistaphylolysine dilué à 1/10.	id. +	id. +	id. +	id. —	id. —

Les signes + indiquent la présence, les signes — l'absence de leucocidine.

La première colonne horizontale de ce tableau indique le titre des dilutions de l'exsudat dont 1 une goutte a été additionnée à 1 goutte de chacune des deux parts de sérum.

La seconde colonne horizontale indique l'action antileucocide du sérum complet dilué à $\frac{1}{10}$.

La dernière colonne, l'action antileucocide du sérum dépouillé de son antistaphylolysine, et dilué également au $\frac{1}{10}$.

Le tableau montre que le sérum entier dilué au $\frac{1}{10}$ parvient à neutraliser totalement la leucocidine de l'exsudat dilué à $\frac{1}{5}$. En effet, dans le mélange d'une goutte de sérum au $\frac{1}{10}$ et d'une goutte d'exsudat au $\frac{1}{5}$, les globules restent tous en vie, comme dans de l'eau physiologique. Mais lorsque le sérum agit sur de l'exsudat dilué à $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{3}$ ou à $\frac{1}{2}$, il ne parvient plus à neutraliser toute la leucocidine et un certain nombre de globules meurent.

Le sérum dont le pouvoir antihémolytique a été détruit, se montre également antileucocide, et cela au même degré que le sérum complet. Dilué à $\frac{1}{10}$ il parvient aussi à neutraliser complètement la leucocidine de l'exsudat au $\frac{1}{5}$, mais incomplètement celle de l'exsudat au $\frac{1}{4}$.

L'action antileucocide est tellement identique dans les 2 sérums qu'il n'est pas possible de distinguer les préparations faites avec l'un de celles faites avec l'autre.

Les expériences précédentes montrent donc que l'on peut dépouiller totalement le sérum d'un animal vacciné de son pouvoir antihémolytique, sans altérer en aucune façon son pouvoir antileucocide.

Ce fait prouve que les vecteurs de ces pouvoirs, l'antileucocidine et l'antihémolysine, sont deux substances différentes.

A la fin du 1er chapitre nous annoncions une cinquième preuve de la dualité de la leucocidine et de la staphylolysine : c'était la production par l'injection de ces substances à des animaux, d'anticorps différents. Nous venons de démontrer la dualité de ces anticorps. *La loi de spécificité nous permet de conclure de la dualité de l'antileucocidine et de l'antistaphylolysine à la dualité de leurs antigènes : la leucocidine et la staphylolysine.*

CHAPITRE III.

Sort des poisons staphylococciques (leucocidine et staphylolysine) et de leurs anticorps (antileucocidine et antistaphylolysine) après leur injection dans le sang.

Nous nous proposons d'étudier dans les pages suivantes le sort que subissent, lorsqu'elles sont introduites directement dans la circulation :

1° les toxines du staphylocoque (leucocidine et staphylolysine);

2° leurs antitoxines (antileucocidine et antistaphylolysine).

Pour résoudre le problème, nous injectons directement ces substances dans le torrent circulatoire, puis nous recueillons, à des intervalles de temps plus ou moins rapprochés de l'injection, des échantillons de sang, dans lesquels nous recherchons les substances introduites.

La technique que nous avons suivie étant la même pour les deux groupes de substances, nous en ferons d'abord l'exposé, afin d'éviter de nous répéter.

L'animal sur lequel nous expérimentons est le lapin. Nous le choisissons d'un poids moyen : 1000 à 1200 grammes; assez gros pour qu'il puisse nous fournir à plusieurs reprises des quantités de sang suffisantes pour nos recherches; pas trop gros pour que les substances introduites dans sa circulation ne subissent pas une dilution trop considérable.

Une des carotides de l'animal est mise à nu et sectionnée entre une ligature placée sur le bout périphérique et une pince placée sur le bout central. Ce bout central est en outre embroché par une fine aiguille, qui permet de diriger le jet de sang, lorsque par ouverture de la pince, celui-ci s'échappe de l'artère.

L'injection des produits dont nous voulons poursuivre le sort dans l'organisme, se fait soit par la veine marginale de l'oreille, soit par la jugulaire.

Quand il s'agit des poisons staphylococciques (leucocidine et hémolysine) nous poussons l'injection avec beaucoup de lenteur, l'expérience nous ayant appris que les lapins meurent en l'espace de quelques minutes, quand ils reçoivent rapidement ces poisons dans le sang.

Avant d'injecter les produits que nous expérimentons, nous recueillons toujours un échantillon de sang. Puis nous procédons à l'injection, en notant l'heure à laquelle celle-ci commence et celle à laquelle elle finit.

Le dispositif très simple que nous avons adopté pour les saignées à la carotide, nous permet de recueillir le sang déjà quelques secondes seulement après l'injection. Nous avons toujours soin de laisser écouler les premières portions du sang qui s'échappent de la carotide, parce que celles-ci ayant nécessairement stagné dans le vaisseau oblitéré, pourraient ne pas présenter la même composition que le sang en circulation.

Le sang recuilli est défibriné par battage et immédiatement centrifugé. Ces opérations se font avec le plus de célérité possible. Après centrifugation le sérum est décanté et soumis aux recherches qui ont pour but d'y déceler la présence des produits injectés, et d'en opérer éventuellement le dosage.

PREMIÈRE PARTIE. — *Sort des toxines staphylococciques introduites dans le sang.*

Les expériences exposées dans les deux chapitres précédents nous

ayant démontré que la leucocidine et la staphylolysine dont deux substances différentes, nous devons en poursuivre le sort séparément.

A. — *Sort de la leucocidine injectée dans la circulation.*

La leucocidine nous est tournie par l'exsudat staphylococcique de lapin, stérilisé par addition de chloroforme, puis débarrassé de celui-ci par le vide.

Un lapin de 1 kilo reçoit le 4-5-08 par la veine marginale de l'oreille 5 cc. d'exsudat leucocide. L'injection commencée à 4 h. 30 est terminée à 4 h. 35. Différentes prises de sang sont ensuite effectuées :

la 1re 1' $\frac{1}{2}$ après la fin de l'injection.
la 2me 12' id. id.
la 3me 25' id. id.
la 4me 45' id. id.

Le tableau suivant nous renseigne sur la puissance leucocide de l'exsudat injecté :

Dilutions.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$
Après 5'	Destruction complète.	La destruction commence.	Mouvements.
Après 10'		Destruction presque générale. Très rares pointes.	Mouvements.
Après 15'		Id.	Mouvements. Rares globules détruits.
Après 30'		Destruction générale.	Le nombre des globules détruits n'atteint pas la moitié.

La dilution à $\frac{1}{50}$ de l'exsudat parvenant encore à détruire en l'espace d'une demi-heure tous les globules, représente l'unité. Une goutte d'exsudat non dilué renferme donc 50 unités leucocides, et une goutte d'exsudat au $\frac{1}{10}$, 5 unités.

L'exsudat injecté dans le sang du lapin subit de la part du sérum une dilution que nous devons évaluer.

Nous estimons que le lapin renferme environ $\frac{1}{15}$ de son poids de

sang. D'autre part la centrifugation du sang nous a montré que le sérum représente approximativement les $\frac{2}{3}$ de la masse du sang, l'autre $\frac{1}{3}$ étant occupé par les globules. En associant ces deux données nous calculons qu'un lapin pesant 1000 grammes renferme $\frac{1.000 \times 2}{15 \times 3} = 44$ grammes de sérum.

Dans l'expérience présente le lapin ayant reçu 5 cc. d'exsudat, celui-ci se trouve dilué à $\frac{5}{(44 + 5)} = \frac{1}{10}$.

En d'autres termes le sérum de l'animal en expérience représente après l'injection une dilution à $\frac{1}{10}$ d'exsudat leucocide.

Le tableau suivant nous montre l'action leucocide du sérum provenant des différentes saignées. Le sérum a été employé comme tel, sans subir de dilution. Il équivaut donc à une dilution d'exsudat au $\frac{1}{10}$.

Sérum de	1re saignée.	2me saignée.	3me saignée.	4me saignée.
Etat des globules. Après 5'	La destruction commence. La plupart ont de beaux mouvements.	Tous vivants.	Tous vivants.	Tous vivants.
Après 10'	Presque tous détruits. Rares mouvements.	La plupart en mouvement. Rares détruits.	Tous vivants.	Tous vivants.
Après 20'	Encore de rares mouvements.	Le nombre des globules détruits est inférieur à la moitié.	Tous vivants.	Tous vivants.
Après 30'	Très rares mouvements.	La destruction n'atteint pas la moitié.	Tous vivants.	Tous vivants.

Si la leucocidine n'avait pas subi de destruction de la part du sang, et si elle n'en était pas sortie, le sérum des diverses saignées devrait exercer une action leucocide aussi intense que l'exsudat dilué à $\frac{1}{10}$. Il devrait donc renfermer lui aussi 5 unités leucocides par goutte.

Le tableau précédent nous montre qu'il n'en est pas ainsi.

Déjà dès la première saignée le sérum ne manifeste plus qu'un pouvoir leucocide très affaibli. En effet, un certain nombre de globules y conservent encore leurs mouvements après une demi-heure. Au lieu de

renfermer 5 unités, une goutte de ce sérum ne renferme donc pas encore une unité leucocide.

Ce fait nous oblige à conclure que déjà dès la première saignée, c'est-à-dire une minute et demie après l'injection, une notable quantité de leucocidine, au moins les $\frac{4}{5}$, a disparu du sang.

Le sérum de la seconde saignée présente une action leucocide plus affaiblie encore. Celle-ci est à peu près comparable à celle que développe l'exsudat au $\frac{1}{100}$. Une goutte de sérum de la seconde saignée ne renferme par conséquent plus qu'environ $\frac{1}{2}$ unité leucocide. Comme elle devrait renfermer 5 unités leucocides il s'en suit que les $\frac{9}{10}$ de la leucocidine ont disparu du sang 12 minutes après l'injection.

Le sérum de la 3me et celui de la 4me saignée ne montrent aucune action leucocide. On peut donc considérer qu'après 25 minutes le sang est totalement débarrassé de la leucocidine, ou tout au moins n'en renferme plus que des traces inappréciables.

En somme cette expérience nous montre que la leucocidine introduite dans le sang ne s'y conserve pas. Elle en disparait au contraire rapidement. Cette disparition s'étend après 1 $\frac{1}{2}$ minute aux $\frac{4}{5}$, après 12 minutes aux $\frac{9}{10}$, après 25 minutes à la totalité de la leucocidine.

Voici une autre expérience dans laquelle la disparition de la leucocidine est plus rapide encore.

Un lapin de 1.250 grammes reçoit le 5-5-08, 3 cc. d'exsudat leucocide par la veine maginale de l'oreille. Les différentes saignées sont effectuées:

la 1re	1'	après l'injection
la 2me	10'	id.
la 3me	20'	id.
la 4me	30'	id.
la 5me	40'	id.
la 6me	60'	id.

La puissance leucocide de l'exsudat injecté nous est indiquée par le tableau suivant :

Dilutions de l'exsudat.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{400}$
Etat des globules blancs après 5'	Destruction.	Destruction.	La majorité sont détruits; les autres en mouvement.	La majorité sont détruits; les autres en mouvement.	Tous vivants.	Tous vivants.
10'			Destruction.	Destruction.	Rares détruits. Mouvements.	Tous vivants.
20'					Les détruits restent rares. Beaux mouvements.	Tous vivants.
30'					Même état.	Tous vivants.

La dilution au $\frac{1}{200}$ étant la plus faible qui détruise encore tous les globules, représente l'unité. L'exsudat non dilué renferme donc 200 unités leucocides par goutte. Une goutte d'une dilution au $\frac{1}{20}$ de cet exsudat renferme par conséquent 10 unités leucocides.

L'animal en expérience pesant 1.250 grammes renferme d'après les calculs exposés antérieurement $\frac{1.250 \times 2}{15 \times 3} = 55$ grammes de sérum,

L'exsudat injecté à cet animal se trouve à la dilution $\frac{3}{(55 \times 3)} = \frac{1}{20}$ environ.

Si la leucocidine injectée dans le sang de l'animal y restait intégralement, une goutte de sérum correspondrait à une goutte d'exsudat dilué au $\frac{1}{20}$, et renfermerait 10 unités leucocides. Le tableau suivant va nous montrer que cela n'est pas :

Sérum de	1re	2me	3me	4me	5me	6me	Saignée.
État des globules blancs après 5′	Tous vivants.	Tous vivants.	Tous vivants.	Tous vivants.	Tous vivants.	Tous vivants.	
10′	id	id.	id.	id.	id.	id.	
15′	id.	id.	id.	id.	id.	id.	
20′	Très très rares détruits.	id.	id.	id.	id.	id.	
30′	Très rares détruits. Beaux mouvements.	id.	id.	id.	id.	id.	

Ce tableau nous montre que déjà dès la première saignée, c'est-à-dire une minute seulement après la fin de l'injection, la quasi totalité de la leucocidine a disparu du sang. La puissance leucocide du sérum de la première saignée est inférieure à celle de la dilution au $\frac{1}{500}$ de l'exsudat. Mais, pour avoir un terme de comparaison, supposons cependant l'équivalence leucocide du sérum et de cette dilution de l'exsudat. Une goutte de sérum renfermerait donc autant de leucocidine qu'une goutte d'exsudat dilué à $\frac{1}{500}$, c'est-à-dire (l'exsudat non dilué renfermant 200 unités par goutte) $\frac{2}{5}$ d'unité leucocide, alors que, sans disparition de la leucocidine, elle devrait renfermer 20 unités leucocides. La quantité de leucocidine qui a disparu du sang dans l'espace d'une minute peut donc être estimée au moins aux $\frac{29}{30}$ de ce qui y a été introduit.

Ni le sérum de la seconde saignée, ni celui des saignées suivantes n'exerce plus aucune action leucocide. On peut en déduire que dès la 10me minute après l'injection, le sang était complètement débarrassé de toute trace appréciable de leucocidine.

Cette expérience confirme la précédente, en montrant que la leucocidine introduite dans la circulation en disparait avec une étonnante rapidité.

Que devient-elle ?

On croyait autrefois que les toxines microbiennes étaient éliminées de l'organisme par les voies d'excrétion : appareil urinaire, glandes sudoripares, etc. De nombreux travaux ont démontré le mal fondé de cette

hypothèse. Ce n'est qu'à l'état de traces insignifiantes que les toxines ont été retrouvées dans les produits d'excrétion. La rapidité et l'intensité avec lesquelles s'opère la disparition de la leucocidine injectée dans le sang ne peuvent pas s'accomoder de cette explication.

On peut supposer :

1° Que la leucocidine est détruite par le sang lui-même;

2° Que cette substance sort du sang et se dilue dans la lymphe;

3° Que sortie du sang elle est fixée par les cellules des organes;

4° Qu'elle subit l'influence d'un certain nombre des facteurs que nous venons d'indiquer.

Examinons en particulier chacune de ces hypothèses.

1° *La disparition de la leucocidine trouve-t-elle dans la destruction que cette substance subit de la part des éléments constitutifs du sang une explication suffisante, ou en d'autres termes le sang de l'animal en expérience est-il capable de détruire toute la leucocidine injectée?*

L'action totale du sang sur la leucocidine est évidemment égale à la somme des actions partielles exercées sur cette substance par le sérum, les globules rouges et les globules blancs.

Action du sérum de lapin sur la leucocidine. — En 1895 Denys et Van de Velde ont signalé que pour opérer le dosage de la leucocidine « on ne peut pas pousser la dilution de l'exsudat aussi loin dans le sérum que dans les autres milieux (eau physiologique, bouillon); mais l'écart est bien faible, et il est nécessaire de procéder lentement et graduellement pour le percevoir ».

Pour expliquer cette différence, Denys et Van de Velde émettent deux hypothèses.

« Dans la première on peut supposer que tout lapin possède dans son sérum un peu de substance antileucocide, très faible à la vérité, et constituant une quantité négligeable en présence de celle que l'on trouve chez les lapins vaccinés.

Dans la seconde hypothèse on peut penser que la différence tient à la composition du milieu.

La leucocidine est une espèce de ferment et l'on sait combien l'action de ces substances est facilement ralentie ou accélérée par une légère différence dans la composition du milieu.

Nous ne saurions dire, ajoutent les auteurs, laquelle de ces deux hypothèses doit être admise ».

Neisser et Wechsberg qui ont également recherché si les sérums d'animaux neufs renferment une antileucocidine naturelle, ne sont pas arrivés à mettre une pareille substance en évidence dans le sérum du lapin.

D'après leurs recherches on doit donc admettre que c'est la seconde hypothèse de DENYS et VAN DE VELDE qui est l'expression de la vérité, et que le sérum du lapin neuf ne possède pas d'antileucocidine.

On ne peut donc pas attribuer au sérum la disparition de la leucocidine injectée dans le sang.

Action des globules du sang sur la leucocidine. — Nous avons vu dans le premier chapitre qu'il est possible d'épuiser complètement le pouvoir leucocide d'un exsudat en lui additionnant des globules blancs. Mais pour réaliser cet épuisement il faut employer des quantités considérables de globules blancs, quantités telles qu'elles n'existent pas dans le sang.

Voici une expérience dans laquelle nous avons fixé le poids des globules blancs nécessaires pour épuiser le pouvoir leucocide de 1 c.c. d'un exsudat de puissance connue.

L'exsudat leucocide dont nous disposons, possède seulement 5 unités leucocide par goutte. Un centimètre cube contenant 20 gouttes, la totalité de l'exsudat que nous devons épuiser renferme donc 100 unités leucocides.

A cet exsudat nous additionnons par doses de 5 ctgr. à la fois des globules blancs lavés de lapin. Ces globules blancs ne sont pas en suspension dans un liquide quelconque, mais ils sont pesés à l'état de magma de centrifugation.

Après chaque addition de globules l'exsudat fréquemment secoué est chauffé à 37° pendant $\frac{1}{4}$ d'heure ou une demi-heure, selon que la destruction des myélocytes se fait plus ou moins rapidement, ce dont l'examen microscopique permet de se rendre compte. L'avant-dernière addition de globules est encore suivie de la destruction complète de ceux-ci, après $\frac{3}{4}$ d'heure de contact.

Les globules ajoutés en dernier lieu meurent en partie, mais un certain nombre survivent encore après une heure.

Pour nous assurer que le pouvoir leucocide a totalement disparu, nous essayons après une dernière centrifugation, une goutte de l'exsudat sur des globules de lapin, et nous constatons que ceux-ci restent parfaitement en vie et présentent de beaux mouvements. Toute la leucocidine a donc été détruite.

Pour opérér cette destruction nous avons dû employer 40 ctgr. de globules blancs.

En procédant par addition successive de 5 ctgr. de globules, nous avons voulu éviter d'ajouter un trop grand excès de ceux-ci. On peut dire que si la dernière addition comporte un peu trop de globules, cette quantité, inférieure à 5 ctgr. est négligeable.

En d'autres termes si l'on veut neutraliser l'action d'un exsudat qui

renferme 100 unités leucocides, il faut employer 40 ctgr. de globules blancs.

Appliquons ces résultats aux expériences précédentes, et recherchons quelle quantité de globules blancs aurait dû exister dans le sang des lapins, si la destruction de la leucocidine devait leur être exclusivement attribuée.

Le premier lapin a reçu 5 cc. d'un exsudat dont une goutte renfermait 50 unités leucocides. Comme 1 cc. représente 20 gouttes, ce lapin a donc reçu 5.000 unités leucocides. Et pour détruire ces 5.000 unités il aurait fallu $\frac{5.000 \times 0.4}{100}$ 20 grammes de globules blancs.

Or l'animal pesant 1 kilo renfermait seulement $\frac{1.000}{15} = 66$ grammes de sang. On peut admettre que les globules rouges et blancs forment ensemble $\frac{1}{3}$ du poids de sang, c'est-à-dire que notre animal avait approximativement 22 grammes de globules.

Pour que la destruction de la leucocidine puisse être attribuée aux globules blancs, il aurait fallu que sur la totalité des globules de son sang (22 grammes), il y eût 20 grammes de globules blancs. En d'autres termes le sang de ce lapin aurait dû renfermer 10 fois plus de globules blancs que de globules rouges.

Des numérations de globules nous ont montré que 1 millim. cube de sang de lapin renferme 5.000.000.000 de globules rouges et seulement 5 à 10.000 globules blancs. Ceux-ci sont donc par rapport aux premiers dans la proportion de 1 à 2 pour mille.

Il ressort de ces calculs qu'il n'y a pas dans le sang du lapin une quantité suffisante de globules blancs pour détruire toute la leucocidine.

Nous pouvons nous faire une idée approximative de la quantité de leucocidine que pourraient détruire tous les globules blancs du sang. La proportion des globules blancs par rapport aux globules rouges étant de de 2 pour 1.000, les 22 grammes de globules devraient contenir $\frac{22 \times 2}{1000} = 0{,}044$ gr. de globules blancs, si ceux-ci avaient le même poids spécifique que les globules rouges. Cette quantité de globules ne pourrait neutraliser que $\frac{100 \times 0{,}04}{0{,}4} = 10$ unités leucocides.

L'animal ayant reçu 5.000 unités leucocides, les globules blancs de son sang pouvant en neutraliser seulement 10, on voit que presque toute la leucocidine introduite dans la circulation a dû en sortir par un autre moyen.

C'est un fait qui ressort bien plus vivement encore de l'expérience pratiquée sur le second lapin. Celui-ci a reçu 3 cc. d'un exsudat dont une goutte renfermait 200 unités leucocides. Un centimètre cube contenant

20 gouttes, l'animal a donc reçu $3 \times 20 \times 200 = 12.000$ unités leucocides. Pour en opérer la destruction il faudrait $\frac{12.000 \times 0,4}{100} = 48$ grammes de globules blancs.

Or l'animal pesant 1.250 grammes ne renferme dans tout son sang que $\frac{1.250}{15 \times 3} = 27,7$ grammes de globules tant rouges que blancs. Ces derniers ne formant que les $\frac{2}{1.000}$ de la masse totale des globules, on peut en évaluer approximativement le poids à $\frac{27,7 \times 2}{1000} = 0$ gr. 055.

Au lieu des 48 grammes de globules blancs nécessaires à détruire la leucocidine injectée, l'animal n'en renfermait dans son sang que 5 ctgr., c'est-à-dire une quantité à peine suffisante pour neutraliser 15 unités leucocides, alors que le lapin en a reçu 12.000.

La disparition si rapide de la leucocidine introduite dans la circulation ne dépend donc pas de l'action des globules blancs du sang.

Peut-elle être rattachée à l'action des globules rouges ?

Pour résoudre cette question nous recourrons à l'expérience suivante :

18 centim. cubes de sang défibriné sont tout d'abord portés à la température de 37° au bain-marie. Il leur est ensuite additionné 3 c.c. d'exsudat, renfermant 25 unités leucocides par goutte. Le mélange est continuellement agité de façon à maintenir les globules au contact de la leucocidine.

Des échantillons sont prélevés à des intervalles de temps variables :

le 1er	après	1	minute
le 2me	»	10	minutes
le 3me	»	20	»
le 4me	»	40	»
le 5me	»	60	»

Ces échantillons sont centrifugés immédiatement après leur prélèvement et le sérum est décanté pour être ensuite soumis à la recherche et au dosage de la leucocidine.

Pour rechercher si la leucocidine a disparu du sang, nous mélangeons une petite anse de globules blancs à une goutte de sérum des divers prélèvements, et nous observons ces préparations à la chambre chaude. Le tableau suivant montre les résultats de cette expérience :

Prélèvements.	1	2	3	4	5
Etat des globules blancs après 5 minutes.	Destruction.	Destruction.	Destruction.	Destruction.	Destruction.

Celle-ci indique que la leucocidine introduite dans le sang, *in vitro*, s'y retrouve encore, même après 60 minutes, en quantité notable. Il suffit en effet de 5 minutes pour que la destruction des globules blancs soit complète.

On peut conclure de cette expérience que les divers éléments qui entrent dans la composition du sang, y compris les globules rouges, ne peuvent pas amener la disparition rapide et complète de la leucocidine introduite dans la circulation.

Mais si le sang ne peut pas opérer la destruction complète de la leucocidine, ne peut-il pas au moins détruire en partie cette substance, et dans quelle mesure ?

Pour résoudre cette question nous devons rechercher si le sérum renferme encore à la fin de l'expérience précédente la totalité de la leucocidine qui y a été introduite.

L'exsudat renfermant 25 unités par goutte, et 1 cc. contenant 20 gouttes, les 3 cc. d'exsudat mélangés au sang représentaient donc $3 \times 20 \times 25 = 1500$ unités leucocides. Ces 1500 unités leucocides ont été réparties dans la portion liquide du mélange (12 cc. de sérum + 3 cc. d'exsudat) soit dans 15 cc. de liquide. Chaque goutte de sérum renfermait donc $\frac{1500}{15 \times 20} = 5$ unités leucocides.

Si la leucocidine n'a subi de la part du sang aucune altération, nous devons retrouver à la fin de l'expérience 5 unités leucocides par goutte de sérum. Si elle a, au contraire, subi une diminution, nous ne retrouverons qu'une fraction de ces cinq unités.

Pour mesurer la valeur leucocide du sérum, nous faisons différentes dilutions : $\frac{1}{2}$; $\frac{1}{3}$; $\frac{1}{4}$ et $\frac{1}{5}$, avec le sérum de l'échantillon prélevé après 60 minutes, et nous mélangeons à 1 goutte de ces diverses dilutions 1 petite anse de globules blancs. Le tableau suivant résume les résultats obtenus après une demi heure d'observation à la chambre chaude :

Dilutions du sérum.	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{5}$
Etat des globules après 3o minutes.	Destruction.	Destruction.	Destruction.	Le plus grand nombre des globules sont détruits. Il reste cependant des globules en vie et en mouvement.

Ce tableau montre que les trois premières dilutions du sérum parviennent encore à tuer tous les globules blancs et cela dans l'espace d'une demi-heure. Chacune d'elles renferme donc au moins une unité leucocide par goutte.

La dilution au $\frac{1}{5}$, au contraire, ne parvenant plus à détruire tous les globules, ne renferme pas une unité leucocide par goutte.

Ces résultats nous indiquent qu'une goutte de sérum non dilué renferme encore 4 unités leucocides, sur les cinq qui lui ont été ajoutées.

La leucocidine n'a donc subi qu'un léger affaiblissement de la part du sang, affaiblissement auquel ont contribué trois facteurs : le sérum, les globules blancs et les globules rouges. Malgré cette triple action, la leucocidine a pourtant conservé les $\frac{4}{5}$ de son activité.

La disparition de la leucocidine introduite dans la circulation du lapin ne peut donc pas s'expliquer par une destruction que subirait cette substance de la part du sang. Dès lors il faut bien admettre que la leucocidine sort du sang.

2° *La leucocidence sortie du sang, s'accumule-t-elle dans la lymphe ?*

Nous avons cherché à y déceler sa présence. Pour cela nous ponctionnons avec un tube capillaire, les ganglions mésentériques d'un lapin, qui a reçu au préalable une injection intra-veineuse d'exsudat leucocide. La ponction des ganglions est pratiquée après que la leucocidine a disparu du sang. Elle nous fournit un liquide riche en lymphocytes. Ceux-ci, disons le en passant, ne subissent pas d'altération de la part de la leucocidine; ils se comportent donc vis-à-vis de cette substance, d'une façon toute autre que les myélocytes ; et on ne peut tirer de leur aspect aucune indication concernant la présence ou l'absence de ce poison.

Dans la lymphe, débarrassée des lymphocytes par action centrifuge, nous avons transporté des myélocytes. Ceux-ci y ont vécu sans présenter le moindre signe d'altération, nous fournissant ainsi la *preuve que la leucocidine après avoir quitté le sang, ne s'accumule pas dans la lymphe en quantité décelable.*

3° Les expériences précédentes nous acculent à une dernière hypothèse : c'est que *la leucocidine, sortie du sang, est détruite par les tissus.*

Nous avons vérifié cette hypothèse en soumettant un exsudat leucocide à l'action de la pulpe de différents organes, et en constatant que sous cette influence le pouvoir leucocide est diminué dans une proportion considérable, variable selon les organes, et qui peut aller jusqu'à l'abolition complète.

Les organes dont nous avons expérimenté l'action, sont : le rein, le foie, la moelle des os, le muscle cardiaque, les muscles moteurs, la rate, les ganglions, le thymus, le poumon. Nous nous sommes borné aux organes du lapin.

L'animal est d'abord saigné à la carotide, puis il lui est injecté par ce vaisseau de l'eau physiologique chauffée à 37-38° jusqu'à ce que le liquide qui s'écoule par la jugulaire sectionnée, soit incolore ou quasi. Il faut en général 1 litre et demi d'eau physiologique pour atteindre ce résultat. A l'autopsie, les organes sont complètement décolorés et l'examen microscopique des tissus écrasés ne révèle plus que de très rares globules rouges, même dans ceux qui normalement en renferment beaucoup, comme le foie et les poumons. Après ce que nous savons de la faible action qu'exerce le sang sur la leucocidine, nous pouvons considérer les traces de sang qui restent dans les tissus lavés, comme incapables de fausser les résultats de l'expérience.

Le lavage terminé le plus rapidement possible, les organes sont extraits de l'animal, puis grattés au moyen d'un scalpel pour les réduire en pulpe grossière. Celle-ci est ensuite légèrement triturée dans un mortier jusqu'à ce que le microscope montre que la dissociation est suffisante. Nous considérons ce résultat comme atteint lorsque les cellules sont en partie isolées, en partie réduites à de petits amas.

Pour pouvoir comparer les organes entre eux au point de vue de leur pouvoir de détruire la leucocidine, nous en prenons des poids égaux.

A ces quantités égales de pulpe d'organes nous ajoutons 2 c.c. d'une d'une dilution à $\frac{1}{10}$ d'exsudat leucocide. Le tout est chauffé à 37° au bain-marie, et fréquemment agité pour maintenir un contact aussi intime que possible entre les cellules et l'exsudat. Après une demi-heure les tubes sont soumis à l'action centrifuge qui sépare la pulpe de l'exsudat. Celui-ci est décanté et son pouvoir leucocide est examiné.

Le tableau suivant résume les résultats d'une expérience de ce genre, dans laquelle il a été employé 1 gramme de pulpe.

Dilutions.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{25}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{750}$	$\frac{1}{1000}$
Exsudat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
Poumon	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
Thymus	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
Ganglion	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
Cœur	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
Muscle	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
Rate	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
Moelle osseuse	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Foie	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Rein	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Les signes + indiquent qu'une goutte des dilutions auxquelles ils correspondent, renferme au moins une unité leucocide ; les signes — au contraire qu'une goutte des dilutions correspondantes ne renferme pas une unité leucocide.

La première colonne horizontale nous montre la puissance leucocide de l'exsudat non épuisé par les organes. Une goutte de la dilution à $\frac{1}{750}$ renfermant encore une unité leucocide, ce qui n'est plus le cas pour la dilution à $\frac{1}{1000}$, l'exsudat non dilué représente une puissance de 750 unités leucocides par goutte.

C'est à cette première colonne que nous devons comparer le pouvoir leucocide de l'exsudat épuisé par les divers organes. A cet effet il a été fait avec le liquide surnageant dans les différents tubes, des dilutions qui correspondent exactement aux chiffres indiqués au-dessus du tableau. Toutes ces dilutions ont été essayées sur les globules blancs. Les résultats de ces essais sont notés, dans le tableau, en séries horizontales, vis-à-vis du nom des organes auxquelles appartiennent les dilutions, et du titre de ces dernières.

Pour faciliter la comparaison du pouvoir destructeur de la leucocidine qui revient aux différents organes, nous les avons rangés par ordre d'intensité croissante, en commençant par le haut.

C'est le poumon qui exerce sur la leucocidine l'action la moins prononcée. Et pourtant dilué au $\frac{1}{100}$ l'exsudat qui a été épuisé par cet organe ne renferme plus qu'une unité leucocide par goutte. Il se montre donc 7,5 fois moins actif que l'exsudat non épuisé.

Viennent ensuite le thymus et les ganglions qui enlèvent à l'exsudat les $\frac{14}{15}$ de sa leucocidine.

En troisième ordre se placent le cœur, les muscles moteurs et aussi la rate, qui font subir à la leucocidine une perte de $\frac{49}{50}$.

Le foie et la rate détruisent presque la totalité de la leucocidine $\frac{74}{75}$. Et enfin le rein paraît la détruire complètement.

Si nous exprimons ces résultats en °/o nous voyons que :

le poumon	a détruit	86 °/o	de la leucocidine
le thymus	»	93 °/o	»
les ganglions	ont détruit	93 °/o	»
le cœur	a détruit	98 °/o	»
le muscle	»	98 °/o	»
la rate	»	98 °/o	»
la mœlle	»	98,6 °/o	»
le foiè	»	98,6 °/o	»
le rein	»	100 °/o	»

Ces résultats montrent clairement que les organes exercent sur la leucocidine une action destructrice très intense.

Si nous comparons les globules blancs et la pulpe des organes, sous le rapport de la destruction qu'ils peuvent faire subir à la leucocidine, la violence avec laquelle les derniers agissent apparait d'une façon bien plus saisissante encore.

Nous avons vu à la page 453 que pour neutraliser complètement l'action de 100 unités leucocides au moyen de globules blancs, il faut en employer 40 ctg. Nous en déduisons que 1 gramme de globules blancs peut détruire $\frac{100 \times 100}{40} = 250$ unités leucocides.

D'autre part, nous pouvons, d'après l'expérience précédente, calculer combien d'unités leucocides ont été détruites par 1 gramme de pulpe des différents organes. Il suffit pour cela de savoir combien d'unités leucocides ont été mises en présence de cette pulpe, et combien il en reste après action de celle-ci.

Chaque gramme de pulpe a été additionné de 2 grammes d'exsudat dilué à $\frac{1}{10}$. Ces deux grammes renfermant 40 gouttes, et une goutte d'exsudat au $\frac{1}{10}$ représentant 75 unités leucocides, il a donc été ajouté à chaque tube $75 \times 40 = 3.000$ unités leucocides.

Combien en reste-t-il après une demi-heure de contact avec la pulpe? Le tableau de la page 457 nous permet de le calculer.

Une goutte de la dilution à $\frac{1}{100}$ de l'exsudat épuisé par le poumon, renferme encore une unité leucocide. Une goutte de la dilution au $\frac{1}{10}$ en renferme donc 10. Et les 40 gouttes que comporte le tube doivent en renfermer 400. Un gramme de poumon a détruit par conséquent 3000 — 400 = 2.600 unités leucocides.

De la même façan nous avons calculé le nombre d'unités leucocides détruites par 1 gramme des autres organes. Les résultats de ces calculs sont consignés dans le tableau suivant :

1 gramme de	globules blancs	détruit	250	unités leucocides.
Id.	poumon	id.	2.600	id.
Id.	thymus	id.	2.800	id.
Id.	ganglion	id.	2,800	id.
Id.	cœur	id.	2.900	id.
Id.	muscle	id.	2.900	id.
Id.	rate	id.	2.900	id.
Id.	moelle	id.	2.960	id.
Id.	foie	id.	2.960	id.
Id.	rein	id.	3.000	id.

Ce tableau, par la comparaison qu'il permet d'établir entre les globules blancs et la pulpe des organes, montre avec quelle remarquable intensité ceux-ci détruisent la leucocidine. Le moins actif d'entre eux, le poumon, exerce sur ce poison une action plus de 10 fois supérieure à celle des globules blancs.

Les expériences précédentes nous permettent de répondre à l'une des questions que nous nous étions posées au commencement de ce chapitre : qu'advient-il de la leucocidine introduite dans la circulation?

Elles nous ont montré :

1° *que la leucocidine disparait du sang rapidement et en totalité ;*

2° *que cette disparition ne peut être attribuée que pour une très petite part à une destruction opérée par les éléments constitutifs du sang;*

3° *qu'elle ne s'explique pas par le passage de la leucocidine dans la lymphe;*

4° *mais qu'elle doit être attribuée à l'action destructrice intense que les organes exercent sur ce poison.*

B. — *Sort de la staphylolysine injectée dans la circulation.*

Les expériences qui vont nous éclairer sur le sort que subit la staphylolysine introduite dans le sang, sont tout-à-fait semblables à celles qui nous ont montré ce qu'il advient de la leucocidine. Les résultats en sont également les mêmes. Elles établissent que la staphylolysine, elle aussi, ne s'attarde pas dans le sang, mais qu'elle en sort et subit de la part des organes une destruction intense.

La staphylolysine introduite dans le sang en disparait très rapidement.

Nous nous bornerons à rapporter quelques expériences qui établissent clairement cette vérité.

Un lapin de 1 kilo reçoit le 3-5-08, par la veine marginale de l'oreille, 2 $\frac{1}{2}$ cc. d'exsudat hémolytique. L'injection commencée à 2 h. 51 est terminée à 2 h. 56. Deux échantillons de sang sont ensuite recueillis à la carotide : le premier 5 minutes, le second 54 minutes après la fin de l'injection.

Le sérum obtenu après battage et centrifugation du sang, est examiné au point de vue de son pouvoir hémolytique, et comparé sous ce rapport à des dilutions correspondantes de l'exsudat injecté. Dans toutes nos expériences relatives à la mensuration du pouvoir hémolytique, nous avons suivi la technique déjà indiquée plus haut. A 20 gouttes de la dilution d'exsudat dont il s'agit d'apprécier le pouvoir hémolytique, nous ajoutons 2 gouttes de magma de globules rouges lavés. Par magma nous entendons la masse de globules que l'action centrifuge tasse au fond des tubes. Celle-ci n'est remise en suspension dans aucun liquide, mais elle est employée comme telle.

Le tableau suivant nous permet de comparer le pouvoir hémolytique de l'exsudat injecté, à celui du sérum recueilli 5 et 54 minutes après l'injection :

Dilutions de l'exsudat.	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$
Exsudat.	Dissolution complète.	Dissolution complète.	Dissolution complète.
Sérum recueilli 5 minutes après l'injection.	Une petite collerette. Fond rouge non dissous.	O	O
Sérum recueilli 54 minutes après l'injection.	O	O	O

Dans les essais qui nous fournissent les résultats consignés dans la première colonne verticale de ce tableau, le sérum est employé comme tel, sans subir de dilution, car il représente déjà lui-même une dilution à $\frac{1}{20}$ de l'exsudat. En effet, les 2 $\frac{1}{2}$ cc. d'exsudat introduits dans la circulation du lapin se sont dissous dans les 44 cc. de sérum que renfermait cet animal.

Pour établir avec le sérum une dilution de staphylolysine comparable à l'exsudat dilué à $\frac{1}{50}$, il suffit de diluer 2 $\frac{1}{2}$ fois le sérum. De même pour obtenir une dilution comparable à l'exsudat au $\frac{1}{100}$ de sérum est dilué 5 fois.

Le tableau précédent montre que l'exsudat est fortement hémolytique. En effet 20 gouttes de la solution à $\frac{1}{100}$ parviennent encore à dissoudre complètement 2 gouttes de globules rouges. La dilution à $\frac{1}{100}$ représente par conséquent au moins 1 unité hémolytique. Nous disons au moins, car si des dilutions plus faibles avaient été préparées, elles auraient peut-être encore exercé une action hémolytique complète.

Le sérum au contraire qui devrait, si l'hémolysine y était restée inaltérée, équivaloir à la dilution d'exsudat à $\frac{1}{20}$, se montre à peine hémolytique lors de la première saignée, et plus du tout lors de la seconde. Non dilué, le sérum recueilli 5 minutes après l'injection, ne parvient plus à dissoudre assez de globules pour que l'hémoglobine mise en liberté, puisse colorer toute la hauteur de la colonne liquide : il y a formation de collerette. Vingt gouttes de ce sérum ne renferment donc pas une unité, mais seulement une petite fraction d'unité hémolytique. Dilué de façon à correspondre à une dilution d'exsudat à $\frac{1}{50}$, ce sérum ne traduit plus aucune action hémolytique.

Cette expérience nous montre que déjà cinq minutes après l'injection, la quasi totalité (plus de 99 °/o) de l'hémolysine introduite a disparu du sang.

Voici une seconde expérience dans laquelle l'hémolysine disparait du sang plus rapidement encore.

Un lapin de 1250 grammes reçoit dans la veine 3 cc. d'exsudat hémolytique. L'injection poussée lentement et d'une façon continue, dure 5 minutes. Des échantillons de sang sont prélevés 1, 10, 20, 40 et 60 minutes après la fin de l'injection, et le sérum qu'ils fournissent est comparé, au point de vue hémolytique, avec des dilutions de l'exudat à $\frac{1}{20}$, $\frac{1}{50}$, $\frac{1}{100}$ et $\frac{1}{200}$.

Dans la circulation de l'animal, l'exsudat injecté a subi une dilution à $\frac{1}{20}$ de la part du sérum. Ce dernier équivaudrait par conséquent, si l'hémolysine restait dans le sang, à la dilution à $\frac{1}{20}$ de l'exsudat. Par des dilutions convenables, diverses portions de sérum sont amenées à correspondre aux dilutions à $\frac{1}{50}$, $\frac{1}{100}$ et $\frac{1}{200}$ de l'exsudat.

Le tableau suivant nous montre les résultats de l'expérience.

Dilutions de l'exsudat.	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$
Exsudat.	Dissolution complète.	Dissolution complète.	Dissolution complète.	Dissolution complète.
Sérum recueilli 1 minute après l'injection.	O	O	O	O
10 minutes après l'injection.	O	O	O	O
20 minutes après l'injection.	O	O	O	O
40 minutes après l'injection.	O	O	O	O
60 minutes après l'injection.	O	O	O	O

Tandis que la dissolution s'opère d'une façon complète dans toutes les dilutions de l'exsudat, elle n'apparait pas même à l'état de trace dans le sérum.

Ici encore l'hémolysine a disparu du sang et cela si rapidement qu'une minute après la fin de l'injection il n'est plus possible d'en déceler la présence.

Nous pourrions rapporter un grand nombre d'expériences semblables. Les résultats en seraient toujours les mêmes. Nous n'en relaterons plus qu'une dans laquelle le premier échantillon de sang a été recueilli 10 secondes seulement après la fin de l'injection.

Un lapin de 1 kilo reçoit le 5-5-08, 5 cc. d'exsudat dans le sang. L'injection commencée à 3 h. 33 finit à 3 h. 38. Une première saignée est pratiquée à 3 h. 38′ 10″. Une deuxième à 3 h. 42. Cette dernière saignée est faite sur l'animal mourant et le sang est recueilli directement dans le cœur.

Le sérum de l'animal représente après l'injection des 5 cc. d'exsudat une dilution de ce dernier à $\frac{1}{10}$. Différentes portions de sérum sont convenablement additionnées d'eau physiologique pour représenter respectivement des dilutions à $\frac{1}{25}$; $\frac{1}{50}$; $\frac{1}{100}$ et $\frac{1}{200}$ d'exsudat.

Ces différentes dilutions sont ensuite comparées au point de vue hémolytique avec des dilutions correspondantes de l'exsudat.

Le tableau suivant nous montre le résultat de ces différents essais :

Dilutions de l'exsudat.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{25}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$
Exsudat.	Dissolution complète.	Dissolution complète	Dissolution complète.	Dissolution complète	Dissolution complète.
Sérum recueilli 10 secondes après la fin de l'injection.	0	0	0	0	0
Sérum recueilli 4 minutes après la fin de l'injection.	0	0	0	0	0

Ce tableau montre clairement que déjà 10 secondes après la fin de l'injection il n'y a plus trace d'hémolysine dans le sang.

Pour apprécier comme il faut la puissance du facteur qui préside à l'élimination de la staphylolysine il est bon de nous représenter l'énorme quantité de ce poison que l'animal avait reçue dans son sang.

Vingt gouttes d'une dilution à $\frac{1}{200}$ parvenant encore a dissoudre complètement 2 gouttes de magma de globules rouges, renferment au moins une unité hémolytique. 1 cc. ou 20 gouttes d'exsudat non dilué représente donc 200 unités hémolytiques. Comme l'animal a reçu 5 cc. d'exsudat, nous pouvons estimer à 1000 unités hémolytiques la valeur de la staphylolysine introduite dans son sang.

Ces 1000 unités représentent une quantité de staphylolysine capable de dissoudre 2000 gouttes ou 100 centimètres cubes de magma de globules rouges, c'est-à-dire la quantité de globules rouges que renferment 300 centimètres cubes de sang de lapin.

C'est de cette énorme quantité de poison que l'animal parvient à débarrasser son sang dans l'espace de 10 secondes.

Les expériences précédentes montrent à l'évidence que la staphylolysine injectée dans le sang n'y demeure pas.

Que devient-elle?

Est-elle détruite dans le sang lui-même par l'un ou l'autre des éléments qui le constituent? Passe-t-elle dans la lymphe? On bien a l'exemple de la leucocidine est-elle saisie et détruite par les organes?

Ce sont là toutes hypothèses que nous allons successivement examiner.

1° *La disparition de la staphylolysine s'explique-t-elle par la destruction qu'elle subit de la part des éléments constitutifs du sang?*

Pour trancher la question examinons successivement l'action exercée sur ce poison par le sérum, les globules blancs et les globules rouges.

Action du sérum de lapin sur la staphylolysine. — L'action neutralisante qu'exerce vis-à-vis de la staphylolysine le sérum de certains animaux non vaccinés, a été d'abord signalée par KRAUSS, puis mieux étudiée par NEISSER et WECHSBERG. C'est le sérum de cheval qui possède ce pouvoir au plus haut degré. Nous pouvions supposer que le sérum du lapin possédait aussi, à l'état normal, une antistaphylolysine, à laquelle pourrait être attribuée la disparition de ce poison, lorsque celui-ci est introduit dans la circulation.

Pour trancher la question, faisons deux parts d'un exsudat hémolytique; l'une est diluée à $\frac{1}{10}$ dans de l'eau physiologique, l'autre également à $\frac{1}{10}$ mais dans du sérum de lapin. Ces deux dilutions sont ensuite maintenues pendant $\frac{1}{2}$ heure au bain-marie à 37°. Puis elles sont examinées au point de vue de leur pouvoir hémolytique. A cet effet différentes portions de ces deux parts sont additionnées d'eau physiologique pour amener la dilution de l'exsudat respectivement à $\frac{1}{25}$, $\frac{1}{50}$, $\frac{1}{100}$ et $\frac{1}{1000}$.

A 20 gouttes de ces dilutions il est ajouté 2 gouttes de magma de globules rouges. Ces tubes bien agités sont maintenus $\frac{1}{2}$ heure au bain-marie à 37°. Puis ils sont abandonnés au repos dans une place froide. Les résultats sont notés après 12 heures.

Voici un tableau qui résume les résultats d'une expérience de ce genre.

Dilution de l'exsudat.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{25}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{750}$	$\frac{1}{1000}$
Exsudat dans eau physiologique.	Dissolution complète.	Dissolution complète.	Dissolution complète	Dissolution complète.	Dissolution incomplète. Fond rougeâtre.	Dissolution incomplète. Fond rougeâtre.	Haute collerette.	Moyenne collerette.	Petite collerette.	Trace de collerette.
Exsudat dans sérum de lapin.	id.	id.	id.	id.	id.	id.	id.	id.	id.	id.

Il montre que le sérum de lapin n'a diminué en aucune façon le pouvoir hémolytique de l'exsudat. Il ne renferme donc pas d'antistaphylolysine. D'autres expériences nous ont donné des résultats analogues. Si nous avons pu quelquefois constater un léger affaiblissement du pouvoir hémolytique dans l'exsudat soumis à l'action du sérum, ils nous est aussi arrivé de constater le contraire, et de voir l'exsudat épuisé par le sérum légèrement plus hémolytique que le témoin. Ces diftérences sont toujours restées extrêmement peu marquées et tombent dans la limite des erreurs possibles. *Aussi de l'ensemble de nos expériences nous concluons que le sérum de lapin ne diminue pas l'action hémolytique de l'exsudat staphylococcique, et que la disparition de la staphylolysine injectée dans le sang ne peut lui être attribuée.*

Action des globules blancs sur la staphylolysine introduite dans le sang. — Nous avons vu dans le premier chapitre que les globules blancs mélangés à de l'exsudat peuvent lui enlever totalement son pouvoir leucocide et affaiblir dans une énorme proportion son pouvoir hémolytique. On pourrait donc penser que la disparition de la staphylolysine introduite dans le sang doit être attribuée à leur action.

Sans doute ils peuvent intervenir dans cette disparition; mais ce n'est que pour une part à peine appréciable, et véritablement négligeable quand on la compare à celle que d'autres facteurs prennent dans ce phénomène.

Pour nous faire une idée de la quanté d'hémolysine que les globules blancs du sang peuvent détruire rappelons les conditions de leur action.

Lorsqu'à un exsudat leucocide et hémolytique on fait des additions successives de globules blancs, dans le but d'épuiser l'un et l'autre de ces pouvoirs, on constate que c'est le pouvoir leucocide qui disparait le premier. Alors que l'on ne trouve plus trace de leucocidine, il reste encore de l'hémolysine en quantité notable. Pour entraîner la disparition de celle-ci, il faut faire à l'exsudat de nouvelles additions de globules blancs.

En d'autres termes, si l'on veut épuiser le pouvoir hémolytique d'un exsudat au moyen de globules blancs, il faut employer des quantités de ceux-ci plus grandes que celles qui sont suffisantes pour épuiser son pouvoir leucocide.

Or nous avons vu que pour épuiser le pouvoir leucocide de l'exsudat injecté, il faudrait des quantités de globules telles qu'elles n'existent pas dans le sang. A plus forte raison pour épuiser le pouvoir hémolytique n'y a-t-il pas dans le sang assez de globules blancs.

Des calculs basés sur des expériences certaines, nous ont montré que tous les leucocytes du sang ne parviendraient pas à détruire la 500me partie

de la leucocidine injectée. A plus forte raison l'hémolysine subit-elle de leur part une destruction plus minime encore.

Ce n'est donc pas aux globules blancs du sang que doit être imputée la disparition de la staphylolysine.

Est-ce aux globules rouges? — Si à 1 cc. d'une dilution à $\frac{1}{10}$ d'exsudat hémolytique on ajoute une goutte de globules rouges et si on maintient quelque temps le mélange au bain-marie à 37°, ou ne tarde pas à constater que tous les globules se sont dissous.

Une nouvelle goutte de globules rouges additionnée à l'exsudat, subit également la dissolution, mais avec un certain retard; une troisième se dissout plus lentement encore. Enfin vient un moment ou la dissolution de la dernière goutte ne se fait plus d'une façon complète, et les globules intacts par sédimentation forment un dépôt rouge. A ce moment l'exsudat est totalement dépouillé de son hémolysine. Les globules rouges sont donc capables de détruire complètement la staphylolysine d'un exsudat.

Est-ce à leur action et exclusivement à elle qu'il faut attribuer la disparition si rapide et si complète de ce poison, lorsqu'il est injecté dans la circulation?

La grande avidité que manifestent les globules rouges pour la staphylolysine et la rapidité avec laquelle cette dernière disparaît du sang, tendraient à le faire croire ; mais l'observation des faits élève contre cette hypothèse de solides objections.

Si on introduit dans la circulation d'un lapin, une quantité de staphylolysine supérieure à celle qui suffirait à détruire tous les globules rouges de son sang, on ne constate pas seulement la disparition d'une partie du poison, en rapport avec la masse de globules, mais une disparition totale.

Revenons pour nous en convaincre à l'exemple de la page 463 dans lequel un lapin de 1 kilo a reçu 5 cc. d'exsudat hémolytique. Nous avons vu que ces 5 cc. d'exsudat pouvaient dissoudre les globules de 300 cc. de sang. Or la masse totale du sang de l'animal ne s'élevait qu'à 66 cc. En d'autres termes, la staphylolysine injectée pouvait dissoudre 5 fois plus de sang que l'animal n'en contenait.

Si les globules rouges sont les seuls facteurs de la disparition de l'hémolysine, il fallait s'attendre à ce qu'ils fassent subir à celle-ci une déperdition de $\frac{1}{5}$, et à retrouver dans le sérum du sang les $\frac{4}{5}$ du poison qui n'ont pas trouvé à être utilisés.

Les faits viennent démentir ces prévisions avec une singulière promptitude, car déjà 10 secondes après la fin de l'injection, il n'y a plus trace d'hémolysine à déceler dans le sang.

Pour soutenir l'hypothèse chancelante que les globules rouges seuls

interviennent dans la disparition de l'hémolysine, il faut l'étançonner d'une nouvelle supposition : c'est que les globules *rouges ne sont pas seulement* capables de fixer la simple quantité d'hémolysine nécessaire à les dissoudre, mais qu'ils peuvent en fixer des multiples. Si nous montrons le mal fondé de cette supposition, si nous prouvons que les globules rouges ne peuvent pas fixer des multiples de la quantité d'hémolysine nécessaire à les dissoudre, la première hypothèse tombera en ruines, et il nous faudra chercher dans un autre facteur la cause de la disparition de l'hémolysine, que l'action des globules rouges n'explique pas à elle seule.

Que les globules rouges ne puissent pas fixer des multiples de la quantité d'hémolysine nécessaire à les dissoudre nous en trouvons la preuve dans les expériences suivantes.

Nous commençons par rechercher la plus petite quantité d'un exsudat qui puisse encore dissoudre complètement 2 gouttes de globules rouges. Ce fait établi, nous constituons deux séries de tubes dont chacun renferme la quantité donnée d'exsudat. Puis, au lieu de les additionner de la totalité des globules rouges qu'ils pourraient dissoudre, nous ne leur en ajoutons que des fractions de plus en plus petites : 1 goutte $\frac{1}{2}$, 1 goutte, $\frac{1}{2}$ goutte, $\frac{1}{4}$ de goutte.

Les tubes ainsi préparés sont maintenus pendant $\frac{1}{2}$ heure au bain marie à 37°, et pendant ce temps, fréquemment secoués.

Si les globules rouges sont capables de fixer des multiples de la quantité d'hémolysine nécessaire à les dissoudre, celle-ci doit avoir totalement disparu dans un certain nombre de tubes, et une nouvelle addition de globules rouges doit échapper à la dissolution. Dans le cas contraire, c'est-à-dire si les globules rouges ne peuvent fixer que la simple quantité d'hémolysine nécessaire pour opérer leur dissolution, il doit rester dans les tubes une certaine quantité d'hémolysine libre, quantité d'autant plus grande que la masse de globules rouges ajoutée d'abord a été plus petite. Et l'addition à chacun des tubes de sa quantité complémentaire de sang, nous entendons par là ce qui lui manque pour avoir reçu 2 gouttes de globules rouges, doit être suivie de la dissolution complète de celle-ci.

Le tableau suivant nous montre que la plus petite quantité d'exsudat encore capable de dissoudre complètement 2 gouttes de globules rouges est représentée par 20 gouttes d'une dilution à $\frac{1}{25}$.

Dilutions de l'exsudat.	1/10	1/25	1/50	1/100	1/200	1/300	1/400
Etat des tubes après 12 heures.	Dissolution complète.	Dissolution complète. Fond gris.	Dissolution incomplète. Fond rougeâtre.	Teinte décroissante. Fond rouge.	Collerette.	Collerette.	Petite collerette

N.B Chaque tube renferme 20 gouttes de la dilution d'exsudat et 2 gouttes de globules rouges

Cela étant, nous préparons deux séries de 5 tubes dans chacun desquels nous introduisons l'équivalent de 20 gouttes d'une dilution d'exsudat à $\frac{1}{25}$. Cet équivalent est représenté par 8 gouttes d'une dilution d'exsudat à $\frac{1}{10}$. Les tubes de chaque série sont ensuite additionnés de quantités décroissantes d'une dilution de sang, correspondant à 2 gouttes, 1 goutte $\frac{1}{2}$, 1 goutte, $\frac{1}{2}$ goutte et $\frac{1}{4}$ de goutte de magma de globules rouges.

Après 1 chauffage de $\frac{1}{2}$ heure à 37° les tubes de la première série qui servent de témoins, ne reçoivent plus de sang, mais 2 gouttes d'eau physiologique. Les tubes de l'autre série reçoivent, au contraire, leur quantité complémentaire respective de sang, c'est-à-dire ce qu'il manquait à chacun d'eux pour avoir été additionné de 2 gouttes de globules rouges.

Tous les tubes sont ensuite remis pendant $\frac{1}{2}$ heure au bain-marie, puis abandonnés au repos à la glacière pendant 12 heures. Les résultats sont alors notés. Ils se présentent comme le figure le tableau suivant.

Dilution de l'exsudat à $\frac{1}{15}$.

N^os des tubes.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Exsudat dilué à $\frac{1}{10}$ . .	8 gouttes	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Glob. rouges dilués à $\frac{1}{4}$.	8	6	4	2	1	8	6	4	2	1
Eau physiologique . .	4	6	8	10	11	4	6	8	10	11
Total. . .	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20

Après $\frac{1}{2}$ heure de chauffage au bain-marie à 37°, addition de

Eau physiologique . .	2	2	2	2	2	2				
Glob. rouges dilués à 1/4							2			
» » » 1/2								2		
» » » 3/4									2	
» » » 7/8										2
Total. . .	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22

Après $\frac{1}{2}$ heure de chauffage à 37° et 12 heures de repos à la glacière,

RÉSULTATS : Dissolution complète partout. Liquide à teinte décroissante allant du

Rouge .	......	..au..	......	jaune
Fond gris.	Trace de fond gris.	Pas de fond.		

Dissolution complète. Liquide rouge et petit fond gris identiques pour tous les tubes.

Ce tableau est divisé en 2 grandes colonnes verticales. Chacune d'elles comprend 5 petites colonnes correspondant à cinq tubes. Les chiffres indiqués dans chaque petite colonne indiquent la composition du tube correspondant. Les résultats de l'expérience sont notés à la partie inférieure du tableau.

Dans la première grande colonne verticale nous avons rangé les tubes qui n'ont reçu qu'une seule addition de sang; ce sont les témoins.

La dissolution a été complète dans tous ces tubes. Mais comme ils renfermaient des quantités de sang de plus en plus petites, la teinte des différents tubes constitue une échelle décroissante allant du rouge intense au jaune clair.

La seconde grande colonne renferme également cinq tubes, additionnés d'abord des mêmes quantités de sang que les tubes témoins. Quatre d'entre eux ont ultérieurement reçu une addition complémentaire de globules rouges.

Si les globules rouges ajoutés en premier lieu, avaient fixé la totalité de l'hémolysine disponible, il n'en serait plus resté pour opérer la dissolution des globules ajoutés ultérieurement. Cette dissolution n'aurait donc pas eu lieu. Les globules de la seconde addition se seraient tassés au fond des tubes à réaction, et le liquide surnageant, ayant dissous exactement la même quantité d'hémoglobine que les tubes témoins, présenterait la même échelle décroissante de colorations. La seule différence entre les 2 séries de tubes consisterait dans un dépôt de globules rouges au fond de ceux qui ont été 2 fois additionnés de sang.

L'examen des tubes appartenant à la seconde colonne montre que les choses ne se sont pas passées de cette façon. Les globules de la seconde addition ont eux aussi subi la dissolution, et cela d'une façon totale dans tous les tubes. Nulle part on ne voit un dépôt rouge, révélateur d'une dissolution incomplète. Partout au contraire le même petit fond gris de membranes décolorées; partout la même teinte du liquide. Les tubes 7, 8, 9 et 10 sont absolument identiques aux tubes 1 et 6, et l'examen le plus minutieux ne permet pas de découvrir entre eux la moindre différence. C'est que ces tubes renferment la même quantité de sang et la même quantité d'exsudat, et que l'action dissolvante de ce dernier s'est exercée d'une façon absolument égale pour tous.

La première addition de globules rouges n'avait donc pas fixé toute l'hémolysine disponible. Elle avait, au contraire, laissé libre la quantité de cette substance nécessaire à opérer la dissolution de la masse complémentaire de globules rouges. En d'autres termes, les globules rouges de la première addition n'avaient fixé que la quantité d'hémolysine exactement suffisante pour les dissoudre.

Cette expérience, plusieurs fois répétée avec des résultats identiques, nous oblige à rejeter comme fausse l'hypothèse que les globules rouges seraient capables de fixer des multiples de la quantité d'hémolysine nécessaire à les dissoudre.

Avec elle s'écroule l'hypothèse que les globules rouges sont les seuls facteurs de la disparition de la staphylolysine injectée dans le sang. Car en supposant même que dans l'expérience antérieurement rappelée à la page 468, tous les globules aient fixé la quantité maxima de staphylolysine, ils n'auraient détruit que le $\frac{1}{5}$ de cette substance. Comment dès lors expliquer la disparition des quatre autres cinquièmes, disparition qui s'est accomplie en l'espace de 10 secondes?

Il faut donc bien admettre l'intervention d'autres facteurs pour

expliquer un phénomène auquel les globules rouges participent sans doute, mais pour une part relativement minime.

Nous laisserions s'implanter une grosse erreur dans l'esprit du lecteur, si nous ne cherchions pas à préciser davantage la part qui revient aux globules rouges dans la disparition de la staphylolysine injectée dans le sang. Il croirait facilement que les globules rouges représentent le facteur le plus agile de la destruction de l'hémolysine, s'emparant de ce poison avec le plus de célérité. Il se représenterait volontiers que si l'on injecte dans le sang une minime quantité de staphylolysine, elle est toute entière absorbée par les globules rouges sans qu'aucun autre facteur intervienne pour s'en emparer et que c'est seulement quand la quantité de poison injecté dépasse le pouvoir de fixation des globules rouges que les autres facteurs d'élimination entrent en jeu.

S'il en était ainsi, si les globules rouges représentaient le facteur le plus prompt de fixation de la staphylolysine, on devrait assister, par l'injection de quantités croissantes de ce poison, à la dissolution de plus en plus prononcée et finalement complète des hématies. Alors seulement, lorsque tous les globules auraient fixé toute l'hémolysine capable de provoquer leur dissolution, les autres facteurs entreraient en activité.

Les faits démentent cette opinion. Si l'on injecte à un animal une quantité d'hémolysine même supérieure à celle qui suffirait à dissoudre, *in vitro*, tous ses globules rouges, et si l'on porte son attention sur ceux-ci, on constate que bien faible est la proportion de ceux qui sont entrés en dissolution.

En voici un exemple, emprunté à l'observation du lapin dont il est parlé à la page 462. Cet animal pesant 1250 grammes renfermait $\frac{1250}{15 \times 3} = 28$ grammes de globules rouges.

Vingt gouttes d'un dilution à $\frac{1}{100}$ de l'exsudat qui lui fut injecté, parvenant encore à dissoudre complètement 2 gouttes de globules rouges, 1 cc. ou 20 gouttes d'exsudat non dilué pouvaient en dissoudre 2×200 soit 400 gouttes. Les 3 cc. injectés pouvaient par conséquent dissoudre 1200 gouttes ou 60 cc. de magma de globules rouges, c'est-à-dire deux fois plus que n'en renfermait l'animal. Il semblerait donc que tous les globules rouges de ce lapin ont subi une dissolution complète.

Pour nous faire une idée de cette dissolution, centrifugeons pendant le même temps les échantillons de sang recueillis après 1, 10, 20, 30, 40 et 60 minutes, et comparons les hauteurs respectives qu'occupent dans les tubes à centrifuger les globules rouges d'une part, le sang total (globules rouges + sérum) d'autre part.

Cette comparaison se laisse traduire dans le tableau suivant :

N^os des tubes.	1	2	3	4	5	6	7
Saignées	avant l'injection	une minute après	10' après	20' après	30' après	40' après	60' après l'injection
Hauteur des globules non dissous	15	14	10	14	14	10	24
Hauteur du sang total.	45	53	34	50	42	28	74
Rapport approximatif.	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{3}$
Coloration du sérum.	Jaune.	Rouge foncé.	Rouge moins foncé.	Comme 3.	Rouge pâle.	Comme 3.	Comme 3.

Si les globules rouges avaient été complètement dissous, comme nous le supposions d'abord, ils ne formeraient pas de culot dans les tubes à centrifuger. Ceux-ci ne renfermeraient que du sérum tenant en solution l'hémoglobine dissoute.

Le tableau précédent nous montre que cela n'est pas. La proportion des globules rouges par rapport au sérum n'a même subi après l'injection qu'une diminution insignifiante, tombant de $\frac{1}{3}$ à $\frac{1}{4}$, pour se relever bientôt au degré primitif.

La teinte rouge foncée du sérum n'est pas un signe de dissolution abondante; on sait en effet avec quelle intensité colore l'hémoglobine. D'ailleurs à partir d'une certaine concentration les teintes que présentent les dilutions différentes de cette substance ne peuvent plus se différencier. Ces teintes ne permettent donc pas d'apprécier à elles seules le degré de dissolution des globules rouges.

De l'examen du tableau précédent il ressort clairement que les globules rouges n'ont subi, au moment des différentes saignées, qu'une dissolution insignifiante eu égard à la quantité d'hémolysine injectée. La diminution qu'ils ont subie n'a pas dépassé en effet $\frac{1}{12}$ de leur masse totale.

On pourrait nous objecter que l'absence de dissolution des globules au moment des différentes saignées n'est pas une preuve de la non fixation par eux de la totalité de l'hémolysine nécessaire à les dissoudre, alléguant que cette dissolution ne s'accomplit pas d'une façon aussi rapide, en l'espace d'une heure. On supposerait en d'autres termes que ceux des

globules, qui n'ont pas subi la dissolution, ont été cependant frappés par le poison, et que c'est le temps seul qui leur a manqué pour se dissoudre.

Il est facile de montrer le mal fondé de cette supposition.

Décantons le sérum rouge qui surnage aux globules dans les tubes renfermant le sang des différents saignées. Puis lavons plusieurs fois de suite le fond de globules dans de l'eau physiologique de façon à débarrasser ceux-ci de l'hémoglobine dissoute qui les imprègne. L'eau de premier lavage a une teinte rouge pâle, celle du second est plus pâle encore. Après éloignement de l'eau de lavage prélevons dans chaque tube 2 gouttes de magma de globules et additionnons-les respectivement à 20 gouttes d'eau physiologique. Les tubes ainsi préparés sont après agitation, abandonnés au repos dans une place froide. Après 12 heures ils montrent que les globules rouges se sont tassés au fond des tubes. Le liquide surnageant est faiblement teinté de rose.

Les globules rouges ne se sont donc pas dissous, ou ne le sont que dans une proportion insignifiante, à peine suffisante pour teinter légèrement la colonne liquide. Dès lors on ne peut pas admettre qu'ils aient fixé une quantité de staphylolysine suffisante pour entraîner leur dissolution.

Si, en nous basant sur les résultats relatés dans le tableau de la page 474, nous estimons à $\frac{1}{12}$ la dissolution des globules rouges, dans le sang, ou même à $\frac{1}{10}$ pour prendre un chiffre exagéré, nous en déduisons que la quantité d'hémolysine fixée par ces corpuscules représente environ la vingtième partie de celle qui a été injectée. En effet nous avons vu que l'exsudat introduit dans le sang aurait pu dissoudre 2 fois la masse totale des globules rouges de l'animal.

C'est donc avec raison que nous considérons la disparition de la staphylolysine injectée dans le sang du lapin, comme n'étant pas le résultat exclusif de l'action des globules rouges. Ceux-ci interviennent d'une façon incontestable dans ce phénomène, mais pour une part relativement minime.

Si, à la lumière des expériences précédentes, nous cherchons à synthétiser le rôle exercé par les élements constitutifs du sang sur la staphylolysine introduite dans la circulation, nous voyons :

1° que le sérum n'exerce sur elle aucune action;

2° que les globules blancs sont en trop petite quantité dans le sang pour prendre une part appréciable à la destruction de ce poison;

3° que les globules rouges en fixent une partie ; mais que leur action ne fournit cependant pas une explication suffisante à la disparition complète et rapide de cette substance.

Il faut donc bien admettre qu'il existe en dehors du sang un facteur

plus puissant et plus agile, capable d'éliminer de la circulation la staphylolysine avant que celle-ci ait eu le temps de se fixer sur la totalité des globules rouges disponibles.

2° *La staphylolysine échappée du sang se retrouve-t-elle dans la lymphe?*

L'analogie que présentent, dans la façon dont elles sont éliminées du sang, la staphylolysine et la leucocidine, nous incline déjà à penser que la lymphe ne constitue pas plus pour la première que pour la seconde de ces substances, un réservoir où elle pourrait s'accumuler.

La ponction des ganglions mésentériques ne nous a pas fourni une quantité suffisante de lymphe pour rechercher dans ce produit la staphylolysine échappée du sang, au moyen de la méthode en tubes.

Mais à l'occasion de la recherche de la leucocidine dans la lymphe, nous avons constaté que les globules rouges mélangés à l'exsudat de globules blancs, ne présentaient pas trace de dissolution. Après une heure de contact à 37° leur nombre n'avait pas diminué dans la préparation et leur teinte n'avait pas pâli.

Nous pouvons conclure de cette observation que la staphylolysine ne se réfugie pas dans la lymphe.

3° *Subit-elle donc, comme la leucocidine, une destruction de la part des tissus?*

Pour résoudre cette question nous avons eu recours à des expériences du même genre que celles qui nous ont montré l'action destructrice exercée sur la leucocidine par la pulpe des organes.

Pour tout ce qui regarde la technique des ces expériences nous renvoyons aux pages précédentes où elle a déjà été exposée.

Voici une première expérience dans laquelle 2 grammes de pulpe d'organes ont été mis en présence de 2 cc., d'une dilution d'exsudat à $\frac{1}{10}$. Les mélanges bien agités ont été chauffés au bain-marie à 37° pendant $\frac{1}{2}$ heure. Nous récupérons ensuite l'exsudat par l'action centrifuge. Puis cet exudat épuisé par les organes, est examiné au point de vue de son pouvoir hémolytique, et comparé à une portion du même exsudat non soumise au contact des organes.

Le tableau suivant nous montre les résultats de cette expérience.

Action de la pulpe de divers organes sur la staphylolysine.

	Dilutions.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{25}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{750}$	$\frac{1}{1000}$
	Exsudat non épuisé.	+	+	+	+	—	—	—	—	—	O
Exsudat épuisé par	Muscle	+	+	—	—	—	—	O	O	O	O
	Cœur	+	+	—	—	O	O	O	O	O	O
	Poumon	+	—	—	—	O	O	O	O	O	O
	Rein	—	—	O	O	O	O	O	O	O	O
	Foie	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
	Rate	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O

Les signes + indiquent la présence d'au moins une unité hémolytique. Les signes — la présence d'une fraction seulement d'unité hémolytique. Les signes O indiquent l'absence complète de dissolution.

Ce tableau comprend 70 petites cases correspondant chacune à un tube. Chacun de ces tubes renferme 2 gouttes de magma de globules rouges et 20 gouttes d'une dilution d'exsudat. Le titre de la dilution de l'exsudat est inscrit au-dessus des cases correspondantes, alignées en séries verticales. La nature de l'exsudat est indiquée vis-à-vis des cases disposées en séries horizontales.

La première série horizontale correspond à l'exsudat non épuisé. Elle montre que la dissolution a été complète jusqu'à la dilution à $\frac{1}{100}$ inclusivement. A partir de la dilution $\frac{1}{200}$ la dissolution n'est plus complète et des globules rouges se tassent au fond des tubes en une masse rouge d'autant plus abondante que la dilution de l'exsudat est plus faible. La dilution à $\frac{1}{1000}$ de l'exsudat non épuisé ne montre plus trace de dissolution.

La seconde série horizontale représente la dissolution exercée sur les globules rouges par l'exsudat épuisé par le muscle. Elle montre que l'hémolysine soumise à l'action du tissu musculaire a subi une altération importante. En effet, la dissolution complète s'arrête ici à la dilution $\frac{1}{25}$; et la dilution à $\frac{1}{400}$ n'exerce déjà plus aucune trace d'action hémolytique. Nous pouvons donc estimer que la staphylolysine a perdu, par le fait de son contact avec le muscle, les $\frac{3}{4}$ de son pouvoir.

La troisième rangée horizontale correspond à l'exsudat épuisé par le muscle cardiaque. La destruction de la staphylolysine a été ici un peu plus prononcée, puisque toute trace de dissolution fait défaut à la dilution $\frac{1}{200}$.

Le poumon qui occupe la quatrième rangée a exercé sur l'exsudat une action plus profonde encore. La dissolution complète s'arrêtant à la dilution à $\frac{1}{10}$ on peut estimer que les $\frac{9}{10}$ de l'hémolysine ont été détruits.

A partir de la cinquième rangée représentée par le rein, la dilution à $\frac{1}{10}$ ne parvient plus à opérer la dissolution complète de 2 gouttes de sang. Elle ne renferme donc plus une unité hémolytique, mais seulement une fraction d'unité. La destruction de la staphylolysine a atteint ici plus des $\frac{9}{10}$ de cette substance.

Dans les deux dernières rangées, qui correspondent à la rate et au foie, on ne constate plus trace d'hémolyse, même pour la dilution à $\frac{1}{10}$. Ici peut-on dire la totalité de la staphylolysine a été détruite.

Nous pouvons résumer les résultats de cette expérience dans les propositions suivantes :

1° La pulpe des organes soumis à l'expérience, exerce sur la staphylolysine une destruction importante.

2° L'intensité de cette destruction varie avec les différents organes.

Nous avons fait de nombreuses expériences du même genre. Elles ont toujours donné des résultats concordants. Pour éviter des répétitions sans intérêt, nous n'en rapporterons plus qu'une dans laquelle nous avons employé seulement 1 gramme de pulpe d'organes pour 2 centim. cubes d'une dilution d'exsudat à $\frac{1}{10}$. Aux organes précédents nous avons ajouté le thymus et les ganglions lymphatiques.

Le tableau suivant montre les résultats de cette expérience :

Action de 1 gramme de pulpe d'organes sur la staphylolysine.

	Dilutions de l'exsudat.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{25}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{750}$	$\frac{1}{1000}$
	Exsudat non épuisé.	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
Exsudat épuisé par	Muscle	+	+	+	—	—	—	—	O	O	O
	Thymus	+	+	—	—	—	—	—	O	O	O
	Cœur	+	+	—	—	—	—	O	O	O	O
	Ganglion	+	—	—	—	O	O	O	O	O	O
	Poumon	+	—	—	—	O	O	O	O	O	O
	Foie	—	—	—	O	O	O	O	O	O	O
	Rein	—	—	O	O	O	O	O	O	O	O
	Rate	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
	Moelle	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O

Les signes + indiquent la présence d'au moins une unité hémolytique; les signes — la présence d'une fraction d'unité hémolytique seulement; les signes O l'absence complète d'hémolyse.

Ce tableau comprend 100 petites cases correspondant aux 100 tubes de l'expérience. Elles sont rangées en séries horizontales de 10 cases. Chaque série représente l'action de l'exsudat soit non épuisé, soit épuisé par l'un ou l'autre organe. Dans les séries chaque case correspond à une dilution de plus en plus faible d'exsudat en allant de gauche à droite.

La première rangée horizontale montre le pouvoir hémolytique de l'exsudat non épuisé. L'hémolyse est complète jusqu'à la dilution à $\frac{1}{100}$ inclusivement. Puis elle s'affaiblit graduellement dans les dilutions suivantes, mais n'est pas encore complètement éteinte à la dilution $\frac{1}{1000}$.

La seconde rangée représente le pouvoir hémolytique de l'exsudat épuisé par le muscle. La dissolution complète ne s'étend que jusqu'à la dissolution à $\frac{1}{50}$ inclusivement. A $\frac{1}{500}$ toute trace de dissolution cesse. La staphylolysine a donc perdu au contact du muscle la moitié de son activité.

Le thymus et le cœur qui occupent les rangées 3 et 4 ont fait subir à l'hémolysine de l'exsudat une perte sensiblement égale et que l'on peut estimer aux $\frac{3}{4}$ de ce poison.

Le ganglion et le poumon qui prennent place dans la 5me et dans la 6me rangée exercent également sur la staphylolysine une action équivalente, en lui enlevant les $\frac{9}{10}$ de son activité.

A partir de la 7me rangée, occupée par le foie, la dilution à $\frac{1}{10}$ de l'exsudat ne parvient plus à dissoudre 2 gouttes de sang. Celle-ci ne renferme donc plus une unité leucocide. Toute trace de dissolution fait déjà défaut dans la dilution à $\frac{1}{100}$.

Le rein se montre un peu plus actif que le foie; au $\frac{1}{50}$ il n'y a plus trace de dissolution.

Enfin la rate et la moelle, qui occupent les 2 dernières rangées, ont complètement épuisé le pouvoir hémolytique de l'exsudat. Même la dilution à $\frac{1}{10}$ ne produit plus d'hémolyse. La destruction de la staphylolysine a donc ici été complète.

Cette expérience confirme pleinement la précédente. Elle montre aussi que les organes détruisent la staphylolysine avec une activité qui varie pour chacun d'eux. Dans les 2 expériences, les organes classés d'après leur activité à détruire ce poison, se rangent exactement dans le même ordre, exception faite pour le foie. Tandis que dans la première expérience cet organe s'est montré supérieur au rein, il lui paraît inférieur dans la seconde. Faisons observer à ce sujet que ces deux organes exercent sur la staphylolysine une action quasi égale, et qu'une petite différence, en plus ou en moins, peut très bien tenir aux manipulations de l'expérience elle-même.

Pour nous représenter plus exactement encore l'intensité de la destruction opérée par la pulpe des organes sur la staphylolysine, recherchons d'abord le nombre d'unités hémolytiques qu'un gramme de chaque organe a détruit, et ensuite la quantité de sang qu'il aurait fallu pour obtenir le même résultat.

Nous avons dit que chaque gramme de pulpe avait été additionné de 2 cc. d'une dilution d'exsudat à $\frac{1}{10}$. Cette dilution d'exsudat renfermait comme le montre le tableau de la page 479, dix unités hémolytiques par 20 gouttes. Les 2 cc. ou les 40 gouttes, additionnés aux pulpes de chaque organe renfermaient donc 20 unités hémolytiques.

Cela étant, nous pouvons calculer le nombre d'unités hémolytiques détruites par gramme d'organe.

Le tableau de la page 479 nous montre que l'exsudat soumis à l'action du muscle, est 2 fois moins hémolytique que l'exsudat non épuisé. Nous devons donc admettre qu'il a perdu la moitié de son

hémolysine, ou en d'autres termes, que 1 gramme de poumon a détruit 10 unités hémolytiques.

Des calculs du même genre nous permettent d'établir le tableau suivant dans lequel nous mettons en regard le poids des organes employés et le nombre d'unités hémolytiques qu'ils ont détruits.

1 gramme de	muscle	a détruit	*in vitro*	10	unités hémolytiques.
»	thymus	»		15	»
»	cœur	»		15	»
»	ganglion	»		18	»
»	poumon	»		18	»
»	foie	»	plus de	18	»
»	rein	»	»	18	»
»	rate	»		20	»
»	moelle des os	»		20	»

Établissons à présent quelles sont les quantités de sang qu'il aurait fallu employer pour obtenir les mêmes effets.

Par définition, pour neutraliser 1 unité hémolytique de staphylolysine il faut 2 gouttes de magma de globules rouges ou 6 gouttes de sang. Par conséquent pour détruire 10 unités hémolytiques comme le fait 1 gramme de poumon, il faut 60 gouttes de sang ou 3 cc.

Nous avons calculé de la même façon que l'effet produit sur la staphylolysine par :

1 gramme de	muscle	correspond	à celui produit par		3	cc.	de sang.
»	thymus	»	»		4,5	cc.	»
»	cœur	»	»		4,5	cc.	»
»	ganglion	»	»		5	cc.	»
»	poumon	»	»		5	cc.	»
»	foie	»	»	plus de	5	cc.	»
»	rein	»	»	»	5	cc.	»
»	rate	»	»	au moins	6	cc.	»
»	moelle des os	»	»	»	6	cc.	»

Il ressort clairement de ce tableau que parmi les organes précités, celui qui exerce sur la staphylolysine la destruction la plus faible, se montre encore 3 fois plus puissant que le sang. La rate et la moelle des os sont 6 fois plus actives.

Grâce aux expériences précédentes nous sommes en état de nous représenter exactement le sort de la staphylolysine injectée dans le sang. Elles nous ont montré :

1° que la staphylolysine introduite dans le sang en disparaît avec une rapidité plus grande encore que la leucocidine;

2° que cette disparition ne trouve pas une explication suffisante dans l'action qu'exercent sur ce poison les éléments constitutifs du sang.

3° qu'elle ne se retrouve pas dans la lymphe;

4° que les différents organes sont capables de la détruire et cela avec une activité variable.

Avant de clore ce chapitre, faisons remarquer que la leucocidine et la staphylolysine lorsqu'elles sont introduites dans la circulation, subissent un sort semblable.

Le sérum reste sans action sur elles; il ne peut que les diluer. Les globules blancs sont trop peu nombreux pour leur faire subir une altération appréciable. Quant aux globules rouges ils paraissent sans action sur la leucocidine, mais lient, quoique dans une très minime proportion, une partie de la staphylolysine.

Ces deux poisons restent d'ailleurs trop peu de temps dans le sang pour y subir de la part de ses éléments constitutifs une altération quelque peu profonde. Ils en sont extraits par les organes, dont l'action destructrice s'est montrée plus violente que celle du sang, et cela aussi bien vis-à-vis de la leucocidine que vis-à-vis de l'hémolysine.

Et cependant remarquons le bien, nous avons expérimenté sur des organes extraits du corps de l'animal, après leur avoir fait subir un lavage profond, après les avoir soumis à des actions mécaniques qui devaient en altérer la vitalité, et en les plaçant dans un milieu artificiel et toxique au sein duquel les échanges nutritifs et respiratoires devaient trouver les plus grandes peines à s'accomplir. Si déjà dans des conditions aussi défavorables, les organes peuvent exercer une destruction aussi prononcée sur la staphylolysine et la leucocidine, combien violente ne doit pas être leur action sur ces poisons, lorsque placés dans le milieu animal, et sans avoir subi d'altération préalable, ils bénéficient des échanges assurés par la circulation et par la respiration ?

En vérité l'étonnante rapidité avec laquelle les poisons staphylococciques disparaissent du sang, n'a plus rien qui surprenne lorsqu'on se représente la puissance et l'importance des éléments qui concourent à leur destruction.

Deuxième Partie. — *Sort de l'antileucocidine et de l'antistaphylolysine introduites dans le sang.*

Après avoir établi que les poisons staphylococciques injectés dans le sang en disparaissent très rapidement et subissent de la part des organes une destruction intense, ils nous a paru intéressant de rechercher si leurs anticorps se comportent également de la même façon.

Dans ce but nous avons eu recours aux expériences suivantes.

Nous injectons dans le sang à des lapins une quantité connue d'anti-

leucocidine et d'antistaphylolysine, puis par des saignées pratiquées à des intervalles de temps plus au moins éloignées de l'injection, nous prélevons des échantillons de sang qui nous servent ensuite à la recherche et au dosage des anticorps.

Voici une première expérience de ce genre. Un lapin de 1200 grammes est d'abord saigné à la carotide de 20 cc. de sang. Il lui est injecté aussitôt après par la veine marginale de l'oreille 40 cc. de sang défibriné et chaud d'un lapin vacciné (lapin 22); des échantillons de sang sont ensuite recueillis à la carotide.

le 1er	2	minutes après	l'injection
le 2me	12	id.	id.
le 3me	30	id.	id.
le 4me	45	id.	id.
le 5me	60	id.	id.
le 6me	2 h. 31 m.		id.

Ces échantillons de sang sont défibrinés puis centrifugés. Il est ensuite procédé aux recherches qui ont pour but de déceler et de doser l'antileucocidine et l'antistaphylolysine.

L'animal renfermait avant l'expérience $\frac{1200}{15}$ = 80 cc. de sang. Après la saignée de 20 cc. et l'injectien de 40 cc. il possédait donc 100 cc. de sang. Sur ces 100 cc. de sang, 40 provenaient d'un lapin vacciné. En d'autres termes, le sang du lapin vacciné avait subi dans le sang de l'animal en expérience une dilution à $\frac{40}{100}$ ou à $\frac{2}{5}$. Le sérum du lapin en expérience représentait donc une dilution à $\frac{2}{5}$ de sérum de l'animal vacciné.

Cela étant, si l'antileucocidine et l'antihémolysine, sont restées intégralement dans le sang, le sérum de l'animal en expérience doit équivaloir par son double pouvoir anti, à une dilution à $\frac{2}{5}$ du sérum 22. Si, au contraire ces substances ont partiellement ou totalement quitté le sang, il se montrera moins actif ou même totalement dépourvu d'action.

Établissons d'abord le pouvoir antileucocide du sérum 22. Dans ce but mélangeons à une goutte d'une dilution à $\frac{1}{10}$ d'un exsudat de puissance connue, une goutte de sérum 22 soit pur, soit dilué à $\frac{1}{10}$ ou à $\frac{1}{25}$. Après un contact de 2 minutes, additionnons au mélange une petite anse de globules blancs et observons ce qu'il en adviendra. Le tableau suivant nous le montre :

Dilutions du sérum.	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{25}$
Etat des globules blancs après 30 minutes.	Vivants.	Vivants.	Détruits.

Une goutte de la dilution à $\frac{1}{10}$ de sérum 22 neutralise complètement l'action leucocide d'une goutte d'exsudat à $\frac{1}{10}$. La dilution à $\frac{1}{15}$ du sérum ne parvient plus à ce résultat.

Recherchons à présent si le sérum de l'animal en expérience dilué à $\frac{1}{4}$ neutralisera à son tour une goutte d'exsudat à $\frac{1}{10}$. (Nous diluons ce sérum à $\frac{1}{4}$ seulement, parce qu'il représente déjà une dilution à $\frac{2}{5}$ du sérum 22; en le diluant au $\frac{1}{4}$ nous obtenons une dilution du sérum 22 exactement égale à $\frac{1}{10}$.)

A 1 goutte du sérum fourni par chaque saignée puis dilué à $\frac{1}{4}$, il est ajouté une goutte d'exsudat à $\frac{1}{10}$. Après deux minutes de contact on y mélange une petite anse de globules blancs. Les résultats de cette expérience sont notés dans le tableau suivant :

Sérum recueilli.	2	12	30	45	60	133 minutes après l'injection.
État des globules après 30 minutes.	Vivants.	Vivants.	Vivants.	Vivants.	Très rares détruits.	Rares détruits.

On voit que le sérum de l'animal en expérience renferme encore après 45 minutes la totalité de l'antileucocidine injectée.

A partir de la soixantième minute il semble y avoir une légère disparition de l'antileucocidine. Nous ne pensons cependant pas qu'il faille interpréter la moindre action antileucocide du sérum recueilli à ce moment, comme le résultat d'une destruction de l'antileucocidine, mais nous l'attribuons à la plus grande dilution qu'a subi cette substance de la part du sérum. A ce moment en effet, notre lapin a déjà perdu beaucoup de sang, chaque saignée lui en ayant enlevé de 7 à 10 cc. Ce qui prouve bien que le sang a subi une dilution notable, c'est la hauteur relative qu'occupent dans les tubes à centrifuger, les globules rouges et le sang total. Tandis qu'à la première saignée la hauteur des globules, par rapport à la hauteur totale du sang, est de $\frac{1}{3}$, à la dernière elle n'est plus que de $\frac{1}{8}$.

D'après cela le sang paraît donc avoir subi une dilution de plus de moitié. De sorte qu'au lieu d'obtenir, par la dilution à $\frac{1}{4}$ du sérum recueilli à la dernière saignée, une dilution du sérum 22 à $\frac{1}{10}$, c'est en réalité une dilution à $\frac{1}{20}$ et peut être plus faible encore, que nous obtenons. Il n'est plus étonnant dès lors que la neutralisation de l'exsudat n'ait pas été complètement réalisée par le sérum des 2 dernières saignées. Il est même remarquable que le sérum si fortement dilué ait encore manifesté une si puissante action antileucocide. Celle-ci ne s'explique que par la persistance dans le sang de l'antileucocidine injectée.

Après avoir montré que l'antileucocidine demeure dans le sang pendant 2 heures, voyons ce qu'il advient de l'antihémolysine.

Le tableau suivant nous montre la valeur antihémolytique du sérum injecté.

Nos des tubes.	1	2	3	4	5
Exsudat	2 gouttes	2 gouttes	2 gouttes	2 gouttes	2 gouttes
Globules rouges	2 »	2 »	2 »	2 »	2 »
Sérum 22	4 »	2 »	1 goutte	1/2 goutte	1/4 goutte
Eau physiologique q. s. pour un total de	22 gouttes	22 gouttes	22 gouttes	22 gouttes	22 gouttes
Résultats.	O	O	Dissolution incomplète. Colonne liquide rouge. Fond rouge.		

D'après ce tableau les 2 premiers tubes ne présentent pas trace d'hémolyse, tandis que ce phénomène existe à un degré plus ou moins prononcé dans les trois derniers. Deux gouttes du sérum 22 suffisent donc encore pour détruire complètement l'hémolysine renfermée dans 2 gouttes d'exsudat. Par contre 1 goutte de sérum laisse persister une certaine quantité d'hémolysine.

Si l'antihémolysine injectée est restée en totalité dans le sang de l'animal en expérience, la quantité de sérum de ce dernier qui renferme 2 gouttes du sérum 22, doit, elle aussi, neutraliser complètement l'effet hémolytique de 2 gouttes d'exsudat. Comme le sérum 22 a subi une dilution à $\frac{2}{5}$ dans le sérum de l'animal en expérience, 2 gouttes du premier sont renfermées dans 5 gouttes du second. Voyons si 5 gouttes de ce dernier sérum renferment autant d'antihémolysine que 2 gouttes de sérum 22.

L'expérience suivante nous le montre. Elle comprend six tubes, correspondant à chacune des saignées faites à l'animal. Chaque tube renferme 2 gouttes d'exsudat hémolytique, 2 gouttes de magma de globules rouges, 5 gouttes de sérum et 13 gouttes d'eau physiologique.

Sérum recueilli	2	12	30	45	60	133 minutes après l'injection
État de l'hémolyse	O	O	O	O	Très haute collerette, fond rouge.	Colonne de liquide rouge, fond rouge.

Le tableau précédent montre que l'action hémolytique de 2 gouttes d'exsudat a été, dans les quatre premiers tubes, complètement neutralisée par la quantité de sérum de l'animal en expérience qui correspond exactement à 2 gouttes du sérum 22. Dans les 2 derniers tubes par contre il n'y avait pas assez d'antihémolysine et l'action hémolytique est apparue.

Cette expérience permet de conclure que jusqu'à la 45[me] minute toute l'antihémolysine injectée était restée dans le sang. La diminution qu'elle subit à partir de ce moment doit être attribuée, d'après nous, à la même cause qui a affaibli l'action de l'antileucocidine, c'est-à-dire à la dilution que le sang a subie par le fait de saignées trop fréquentes et trop abondantes.

L'expérience suivante confirme d'ailleurs notre suppositon en montrant que l'un et l'autre de ces anticorps se laisse encore mettre en évidence dans le sang 12 et même 19 heures après l'injection.

Un lapin de 1250 grammes reçoit dans le sang 25 cc. du sérum 22. Il lui est fait ensuite 3 saignées par ponction de la veine marginale de l'oreille :

la première 2 h. $\frac{1}{4}$ après l'injection ;
la seconde 12 heures »
la troisième 19 » »

Les trois échantillons de sang recueillis sont comparés, quant à leurs pouvoirs antileucocide et antihémolytique, au sérum injecté.

Il a déjà été établi que le sérum 22 dilué à $\frac{1}{10}$ neutralise à quantité égale l'exsudat leucocide également dilué à $\frac{1}{10}$.

Cela étant, le sérum du lapin en expérience est convenablement dilué pour correspondre à une dilution à $\frac{1}{10}$ du sérum 22, puis son pouvoir antileucocide est essayé. A cet effet 1 goutte du sérum ainsi dilué est additionnée à 1 goutte d'exsudat au $\frac{1}{10}$, puis, après 2 minutes de contact, il est ajouté au mélange une petite anse de globules blancs.

Le tableau suivant montre les résultats de l'expérience après 30 minutes d'observation.

Sérum recueilli.	2 1/4 heures.	12 heures.	19 heures après l'injection.
État des globules après 30 minutes d'observation.	Tous vivants.	Presque tous vivants. Rares détruits.	Presque tous vivants. Rares détruits.

Après 2 heures toute l'antileucocidine introduite existait donc encore dans le sang. Après 12 heures elle avait subi une diminution très peu marquée et qui ne s'était pas accentuée 7 heures plus tard.

Voyons maintenant comment se comporte l'antihémolysine. Si elle n'a pas quitté le sang, la quantité de sérum de l'animal en expérience correspondant à 2 gouttes de sérum 22, doit neutraliser complètement l'action hémolytique de 2 gouttes d'exsudat.

Le tableau suivant nous montre les résultats du dosage de l'antihémolysine.

Sérum recueilli	2 heures 1/4	12 heures	19 heures après l'injection
État de l'hémolyse	O	Petite collerette	Teinte décroissante, fond rouge

Le sérum recueilli 2 h. $\frac{1}{4}$ après l'injection renferme encore toute l'antihémolysine injectée, puisque à la dose calculée, il empêche complètement la dissolution des globules rouges.

Après 12 heures au contraire il ne renferme plus assez d'antihémolysine pour exercer sur l'exsudat une neutralisation complète. Il reste une trace de ce poison non liée et qui traduit sa présence par la dissolution de quelques globules rouges. On doit penser que la neutralisation a cependant été presque complète, puisqu'il n'y a formation que d'une petite collerette. Ce résulat montre que 12 heures après l'injection la quasi-totalité de l'antihémolysine existe encore dans le sang.

Après 19 heures la diminution de l'antihémolysine est plus sensible. Elle laisse non liée une quantité d'hémolysine suffisante pour opérer une dissolution un peu plus prononcée des globules rouges, et la collerette grandit jusqu'à atteindre le sommet de la colonne liquide. Il faut donc admettre qu'à la 19me heure une certaine quantité d'antihémolysine a quitté le sang. Cette quantité est cependant faible et n'atteint pas la moitié de l'anticorps injecté.

Des expériences précédentes il résulte que les anticorps des poisons staphylococciques introduits dans la circulation se comportent d'une façon autre que leurs antigènes. Tandis que ces derniers disparaissent du sang si rapidement qu'il n'est quelquefois plus possible de les y déceler après 10 secondes, les anticorps au contraire y demeurent longtemps intacts et s'y retrouvent encore en très grande quantité 19 heures après l'injection.

La différence entre la façon dont se comportent, lorsqu'ils sont introduits dans le sang, les poisons microbiens d'une part et les substances actives des sérums d'autre part, a déjà été signalée par DECROLY et RONSSE,

Les auteurs gantois en injectant dans le sang des lapins de l'antitoxine diphtérique constatèrent que cette substance reste dans le sang jusqu'à la soixantième minute qui suit l'injection, tandis que la toxine diphtérique en est presque totalement éliminé de la 8me à la 14me minute.

La disparition de l'antitoxine est cependant encore relativement rapide dans les expériences de Decroly et Ronsse. Cela tient à ce que ces auteurs expérimentaient avec de très petites quantités d'antitoxine (de $\frac{1}{10}$ à $\frac{1}{4}$ de cc.).

Mais quand on emploie de grandes doses de sérum, la disparition se fait avec beaucoup plus de lenteur comme le montrent les expériences de Bornstein (1). A des chiens de 15 à 18 kilos cet auteur injectait de 1150 à 1400 cc. de sérum antidiphtérique, de sorte que chaque centimètre cube de sang de chien renfermait après l'injection 7 unités antitoxiques. Des dosages pratiqués chaque jour montrèrent que plus de la moitié de l'antitoxine a déjà disparu le second jour, mais qu'à partir de ce moment la disparition se fait d'une façon lente et n'arrive à être complète que vers le 14me jour.

Nos expériences montrent que les antitoxines staphylococciques se comportent comme l'antitoxine diphtérique, et qu'elles restent dans le sang un temps très appréciable. Elles finissent aussi par en être éliminées, subissant en cela l'évolution de tout ce qui, introduit dans l'organisme, ne peut pas s'y renouveler.

Résumons brièvement les principales conclusions de notre travail :

1. Le staphylocoque pyogène sécrète au moins deux toxines différentes : la leucocidine et la staphylolysine.

2. Ces toxines ne jouissent pas d'une spécificité absolue. Nous entendons par là, qu'elles peuvent se fixer sur des cellules d'autre nature que celles vis-à-vis desquelles elles manifestent particulièrement leur action toxique.

3. L'immunisation des lapins au moyen des toxines staphylococciques détermine l'apparition dans le sérum de ces animaux d'au moins deux antitoxines différentes : l'antileucocidine et l'antistaphylolysine.

4. Les toxines staphylococciques introduites dans le sang en disparaissent très rapidement.

5. Cette disparition n'est pas exclusivement le résultat d'une combinaison entre les globules du sang et leurs poisons respectifs.

6. Elle résulte surtout de l'action destructive intense exercée sur ces poisons par différents organes.

---

(1) *Zur Frage der passiven Immunität bei Diphterie.* Centr. Bl. für Bakt. 1897, p. 5?7.

7. A côté du pouvoir bactéricide des myélocytes il faut leur reconnaître un pouvoir antitoxique.

8. Les anticorps des poisons staphylococciques introduits dans la circulation ne se comportent pas comme leurs antigènes. Au lieu de disparaître rapidement ils demeurent au contraire longtemps dans le sang.

En terminant ce travail nous voulons rendre à notre savant maître, Monsieur le Professeur DENYS, un hommage public de reconnaissance, pour la générosité avec laquelle il a mis les ressources de son laboratoire à notre disposition, pour les conseils éclairés par lesquels il a dirigé nos recherches et pour les encouragements qu'il nous a prodigués.

15 juin 1908.

TRAVAIL DE L'INSTITUT DE PHARMACODYNAMIE ET DE THÉRAPIE
DE L'UNIVERSITÉ DE GAND
DIRECTEUR : PROFESSEUR J. F. HEYMANS.

48. — Recherches expérimentales sur le rapport entre la catalyse et la fermentation

PAR

LE Dr G. D. SPINEANU (BUCAREST).

On appelle *catalyse* de καταλύειν, dissoudre, le phénomène qui a lieu, quand un corps met en jeu, par sa seule présence et sans y participer chimiquement, certaines affinités, qui, sans lui, resteraient inactives, (BERZELIUS, 1835)(1). Par exemple si on ajoute au chlorate de potassium du bioxyde de manganèse, on constate que le chlorate de K commence à se décomposer à 280°, soit à une température plus basse que lorsqu'on le chauffe seul. Le bioxyde de manganèse reste inaltéré dans la réaction, on le retrouve intégralement après la fin de l'opération. On a appelé agent catalytique ou catalysateur tout corps doué de cette propriété, et action catalytique ou catalyse, la transformation qu'il provoque (2).

Les agents catalytiques ou catalysateurs influent sur la vitesse d'une réaction chimique, sans apparaître eux-mêmes dans les produits finaux de cette réaction (3).

Il y a deux catégories d'agents catalytiques :

A) *Agents catalytiques positifs,* ceux qui augmentent les réactions chimiques, par exemple, la réaction entre l'eau oxygénée et l'acide iodhydrique, peut être augmentée par un grand nombre d'agents catalysateurs (4).

---

(1) E. LITTRÉ et CH. ROBIN : Dictionnaire de Médecine (mot catalyse).

(2) FRÉD. SWARTS : Chimie inorganique, 1907, vol. I.

(3) OSCAR LOEW : *L'énergie chimique primaire et la matière vivante,* 1904, p. 142.

(4) J. BRODE : *Katalyse bei der Reaction zwischen Wasserstoffperoxyd und Iodwasserstoff.* (Zeit. für physical. Chemie XXXVII 1901, p. 257).

B/ *Agents catalytiques négatifs,* qui paralysent plus ou moins complètement une réaction; en d'autres termes ce sont des agents retardateurs d'une réaction chimique (1).

Réactions conjuguées. — Ce sont des réactions chimiques dans lesquelles deux corps, A et B, ne réagissent pas l'un sur l'autre, mais si l'on ajoute un corps C, qui réagit avec A, la réaction entre A et B se produit également (2).

Ces notions étant bien établies, voyons quel rapport peut exister entre la catalyse et la fermentation.

On a comparé la fermentation à la catalyse et on a dit que les enzymes sont des agents catalysateurs, que leur action catalysante est proportionnelle à leur masse. Leur vitesse augmente avec la température jusqu'à 40°; elle atteint son maximum entre 40° et 50°, au delà, la réaction diminue et la température commence à devenir nuisible; enfin à 100°, elle détruit le ferment et la catalyse cesse.

Par conséquent, d'après ces conceptions les diastases seraient des agents catalysateurs, qui exerceraient une influence seulement par leur présence ou leur contact, sans changer leur état, sans augmenter ou diminuer leur masse. Elles doivent se retrouver intactes à la fin de la fermentation.

Cette affirmation est basée sur une autre affirmation à savoir : « Que les ferments solubles sont doués d'une activité indéfinie, que par leur intervention dans les fermentations, ils ne perdent rien de leur énergie, quelle que soit la quantité de substances transformée. »

Nous avons déjà démontré expérimentalement, que cette dernière affirmation n'est pas exacte, au moins en ce qui concerne le ferment gastro-protéolytique (3). En effet :

1° La pepsine est un ferment soluble qui travaille séparé de ses cellules-mères (diastagigènes), dans ces conditions il n'est pas possible qu'elle répare l'énergie consommée par les processus fermentatifs; tandis que pour les ferments solubles, qui exercent leur activité en présence de leurs cellules-mères, par exemple la levure de bière, au fur et à mesure qu'ils consomment leur énergie, ils se renouvellent par leurs cellules-mères.

2° SCHIFL et SCHWANN, entre autres expérimentateurs, ont soutenu que la pepsine épuise son énergie, au fur et à mesure qu'elle est employée dans la fermentation. Mais d'autres expérimenteurs, sans nier les faits

(1) FRÉD. SWARTS : Loc. cit.

(2) V. HENRI et LARGUIER DES BANCELS : *Etude des actions catalytiques.* (Journal de physiologie et de pathologie générale 1904).

(3) G. D. SPINEANU : *Coefficient dynamique des ferments solubles.* Arch. intern. de Physiol. 1908.

observés par eux, ont changé l'interprétation, en soutenant que l'arrêt des phénomènes fermentatifs est dû, non pas à l'épuisement du ferment, mais à la concentration protéolytique de la liqueur peptique et à l'insuffisance de l'acide libre.

Par certaines recherches expérimentales, j'ai démontré que cette dernière interprétation est fausse, et cela à cause d'une erreur de technique, à savoir :

a/ La confusion qu'on a faite entre le moment de la cessation de la dissolution de la substance fermentescible et le moment de l'arrêt de la peptonisation. Il faut, en effet, considérer deux sortes d'arrêt : ***arrêt apparent,*** c'est-à-dire la cessation de la dissolution de la substance fermentescible et ***arrêt définitif,*** c'est-à-dire la fin des processus peptonisants. Entre l'un et l'autre il y a un temps assez long, qu'on ne peut pas négliger, sans commettre une erreur, car pendant ce temps se passent toutes les transformations intermédiaires entre la dissolution de l'albumine et sa peptonisation, c'est-à-dire la formation des protéoses primaires, secondaires, etc.

b/ Une autre erreur est de ne pas avoir déterminé le pourcentage de la concentration protéolytique à laquelle on a attribué l'arrêt de la fermentation.

c/ Enfin on a négligé l'influence des produits de transformation fermentative sur la substance fermentescible.

J'ai cherché d'abord à éviter ces erreurs dans mes expériences, puis j'ai procédé aux expériences définitives, de trois façons :

I. — J'ai préparé des liqueurs peptiques, avec du suc gastrique artificiel et à différents degrés d'acidité, compris entre 1 °/oo et 10 °/oo. Ces expériences ont démontré que ni la concentration protéolytique, ni l'insuffisance de l'acide libre, ne peuvent être invoquées comme cause d'arrêt de la fermentation et que la vraie cause doit être l'épuisement du ferment, au fur et à mesure qu'il est employé dans les digestions.

II. — J'ai fait les digestions non avec du suc gastrique, mais à l'aide des liqueurs peptiques réduites aux trois éléments absolument nécessaires, c'est-à-dire l'eau, l'acide et le ferment. Ainsi toute influence due aux autres corps chimiques qu'on trouve dans le suc gastrique a été éloignée. Les résultats finaux ont été les mêmes que dans les expériences faites avec du suc gastrique.

III. — Enfin j'ai encore obtenu le même résultat en précipitant les produits contenus dans la liqueur peptique pendant la fermentation et après l'arrêt des phénomènes digestifs. Pour cela on précipite la liqueur peptique au moyen de l'alcool absolu, le précipité est lavé à l'éther et desséché pendant 24 heures dans un dessicateur à acide sulfurique, puis il est dissous dans de l'eau distillée acidulée par l'acide chlorhydrique

à 2 °/₀₀. En soumettant de l'albumine à la liqueur ainsi obtenue, on constate que la digestion reparait, si l'on a opéré la précipitation pendant la fermentation, tandis qu'elle ne recommence pas si l'opération a porté sur une liqueur peptique où l'arrêt des phénomènes digestifs s'était déjà produit.

De toutes ces expériences j'ai déduit que l'enzyme gastro-protéolytique est un ferment soluble qui s'épuise au fur et à mesure qu'il exerce son activité fermentative. Donc je ne puis admettre, — au moins en ce qui concerne la pepsine gastro-protéolytique, — que les ferments solubles sont doués d'une activité indéfinie, et qu'au cours de la fermentation ils ne perdent rien de leur énergie, quelle que soit la quantité de substance transformée. Au contraire cet enzyme possède un maximum d'énergie utilisable dans les phénomènes digestifs, maximum qui a été appelé *coefficient dynamique*.

Expériences.

Les expériences susdites sont suffisantes, pour établir la différence entre la catalyse et la fermentation. Cependant, nous avons fait de nouvelles recherches expérimentales afin de montrer que *la réaction produite par le ferment gastro-protéolytique, entre la liqueur peptique et la substance fermentescible, n'est pas une action catalytique, mais une réaction chimique et que le ferment est ici le réactif qui produit cette réaction*. En effet, si le ferment était un agent catalysateur, il devrait se retrouver intact à la fin de la fermentation. Les expériences qui suivent, comme celles dont nous avons parlé plus haut, nous montrent que le ferment perd progressivement son énergie, au fur et à mesure qu'il produit de la fermentation. c'est ainsi qu'après quelques jours, ses propriétés protéolytiques ont complètement disparu et qu'à la fin de la fermentation, il n'existe plus; donc, il n'agit pas par sa présence ou son contact, comme un agent catalysateur, mais il prend part chimiquement à la réaction.

Les expériences que nous avons instituées sont basées sur le principe que nous avons exposé plus haut, c'est-à-dire que si on précipite le ferment gastro-protéolytique par l'alcool absolu, après lavage du précipité par l'éther, dessication au-dessus de l'acide sulfurique, puis dissolution dans l'eau distillée acidulée par l'acide chlorhydrique, la fermentation recommence et continue. Le précipité contient donc le ferment et grâce à lui, le pouvoir protéolytique se manifeste dans la nouvelle liqueur peptique.

Dans ces expériences il faut considérer la liqueur peptique et la substance fermentescible.

La liqueur peptique. — Je me suis servi du suc gastrique artificiel préparé ainsi : j'ai mis 20 °/₀ de muqueuse stomacale de porc, bien

hachée, dans de l'eau distillée, acidulée à 1 °/₀₀ par l'acide chlorhydrique du commerce, je l'ai laissée à l'étuve à 38°, pendant 24 heures, puis j'ai filtré.

Avant de commencer mes expériences, j'ai recherché le degré d'acidité des différentes solutions d'acide chlorhydrique à 30 °/₀ du commerce et j'ai trouvé qu'il existe une grande différence de concentration entre les unes et les autres. De plus on sait que l'acide chlorhydrique du commerce est souvent impur, il peut contenir de l'acide sulfurique, de l'acide sulfureux, du chlore etc. Pour ces raisons j'ai pris comme critérium de mes recherches le degré d'acidité de la liqueur peptique, quelle que soit la teneur en acide chlorhydrique ou autre. Quand je prépare une liqueur peptique, j'y mets une quantité suffisante de la solution chlorhydrique, pour obtenir le degré d'acidité voulu, par exemple 1 °/₀₀; 2 °/₀₀; 3 °/₀₀. Quand je dis liqueur peptique à 2 °/₀₀, j'entends par là, que la liqueur peptique a le degré d'acidité de 2 °/₀₀ et non que dans la liqueur peptique on trouve 2 °/₀₀ d'acide chlorhydrique pur.

Le degré d'acidité de la liqueur peptique a été déterminé d'après les mêmes règles que celui de l'acidité totale du suc gastrique.

J'ai toujours préparé la liqueur peptique en quantité assez grande, de manière à pouvoir répéter la même expérience plusieurs fois avec la même liqueur peptique et dans les mêmes conditions.

Comme ferment j'ai employé la pepsine de porc pure (GRÜBLER) et dépourvue d'autres substances étrangères.

Substance fermentescible. — J'ai employé l'albumine d'œuf, c'est-à-dire le blanc d'œuf bien coagulé à l'étuve à 90°, pendant 3 à 5 heures, de manière à ce que la masse présente la même consistance dure. L'albumine est débitée en cubes, pesant chacun exactement un gramme. Les cubes sont toujours préparés au moment de leur emploi.

J'ai fait des essais avec l'albumine d'œuf desséchée du commerce, mais je l'ai trouvée impropre aux expériences que je poursuivais, c'est pourquoi j'y ai renoncé.

La liqueur peptique et la substance fermentescible sont mises dans des ballons de 100 c.c. bien bouchés.

Comme la substance fermentescible qui est laissée longtemps en contact avec la liqueur peptique chargée de produits protéolytiques, s'imbibe de ces produits et finit par devenir refractaire à la digestion, pour éviter cet inconvénient, dans toutes mes expériences, je pèse toutes les 24 heures l'albumine soumise à la digestion et je remplace par de l'albumine neuve, celle non digérée, même quand elle est en quantité très petite.

Ces pesées et ces remplacements de l'albumine sont continués, même après la cessation de la dissolution de l'albumine, jusqu'à la fin de la

peptonisation, car la dissolution n'est que le commencement de la fermentation, c'est-à-dire la première transformation de la substance fermentescible. La fermentation commence au moment où on a mis à digérer la liqueur peptique et elle continue jusqu'à la fin de la peptonisation.

Par conséquent, pour connaître le point où en est la fermentation pendant toute sa durée, on doit continuer les digestions, après l'arrêt de la dissolution, au moins aussi longtemps que dure la dissolution. Pour cette raison, je fais les expériences pendant dix jours, bien que l'arrêt apparent, c'est-à-dire la cessation de la dissolution de l'albumine se montre déjà le 7[e] jour de la fermentation.

Technique des expériences. — Les expériences peuvent être faites de la manière suivante. On prépare la liqueur peptique (*a*).

(*a*)
- Suc gastrique à l'acidité totale de 1 °/₀₀. . . . . 200 c.c.
- Solution d'acide chlorhydrique du commerce, quantité suffisante pour obtenir la liqueur peptique à 2 °/₀₀ d'acidité.
- Pepsine de porc pure, sèche . . . . gr. 0,20

On laisse la liqueur (*a*), pendant 3 à 5 heures, en l'agitant de temps en temps, pour que la dissolution de la pepsine dans le suc gastrique soit complète, puis on divise la liqueur (*a*) en dix parties égales, on les met en dix ballons, numérotés de 1 à 10, on ajoute à chaque ballon un gramme d'albumine d'œuf et on commence les digestions à 40°; on les continue pendant dix jours, de la manière suivante :

1[er] jour (après 24 heures). — Dans tous les ballons on trouve l'albumine complètement dissoute. Alors on précipite la liqueur du ballon n° 1 par l'alcool absolu, on lave le précipité à l'éther, on dessèche au dessus de l'acide sulfurique pendant 24 heures, on redissout le précipité dans 20 c.c. d'eau distillée acidulée à 2 °/₀₀, par l'acide chlorhydrique, on y met un gramme d'albumine bien cuite et on recommence les digestions à 40°. On voit que les phénomènes protéolytiques recommencent et continuent.

Dans les ballons 2 à 10, on ajoute à chaque ballon un gramme d'albumine et on continue les digestions.

2[e] jour (après 48 heures). — On pèse l'albumine non dissoute dans tous les ballons, on précipite la liqueur du ballon n° 2, en procédant absolument comme avec la liqueur du ballon n° 1. Quand on recommence les digestions avec la nouvelle liqueur peptique, c'est-à-dire la liqueur peptique préparée par la dissolution du précipité du ballon n° 2, on voit que les phénomènes protéolytiques recommencent et continuent.

Dans les ballons 3 à 10, on change l'albumine non digérée et on continue les digestions.

3e jour. — On pèse l'albumine non dissoute dans tous les ballons nº 3 à 10, on précipite la liqueur du ballon nº 3 en procédant comme avec les ballons nº 1 et 2. Quand on recommence les digestions avec la nouvelle liqueur peptique, on voit que les phénomènes protéolytiques recommencent et continuent, mais d'une manière plus faible qu'avec le précipité du ballon nº 2.

Dans les ballons nº 4 à 10 on change l'albumine non digérée et on continue les digestions.

4e jour. — On pèse l'albumine non dissoute dans tous les ballons nº 4 à 10, on précipite la liqueur du ballon nº 4, en procédant comme ci-dessus. Quand on recommence les digestions avec la nouvelle liqueur peptique, on voit que les phénomènes protéolytiques recommencent et continuent, mais d'une manière plus faible qu'avec le précipité du ballon nº 3.

Dans les ballons nº 5 à 10, on change l'albumine et on continue les digestions.

5e jour. — On pèse l'albumine non dissoute dans les ballons nº 5 à 10, on précipite la liqueur du ballon nº 5, en procédant absolument comme avec les liqueurs des ballons nº 1 à 4. Quand on recommence les digestions avec la nouvelle liqueur peptique, on voit que les phénomènes protéolytiques recommencent et continuent, mais très faiblement.

Dans les ballons nº 6 à 10, on change l'albumine non digérée et on continue les digestions.

6e jour. — On pèse l'albumine non dissoute dans les ballons nº 6 à 10, on précipite la liqueur du ballon nº 6, comme ci-dessus. Quand on recommence les digestions avec la nouvelle liqueur peptique, on voit que les phénomènes protéolytiques recommencent et continuent mais ils sont plus faibles que dans les ballons nº 5.

Dans les ballons nº 7 à 10 on change l'albumine et on continue les digestions.

7e jour. — On pèse l'albumine non dissoute des ballons nº 7 à 10 et on constate que l'albumine nouvelle, mise dans ces ballons n'a pas diminué de poids. On précipite la liqueur du ballon nº 7 et quand on recommence les digestions avec la nouvelle liqueur peptique, on voit néanmoins que les phénomènes protéolytiques recommencent et continuent mais plus faiblement qu'avec le précipité de la liqueur du ballon nº 6.

Dans les ballons nº 8 à 10, on change l'albumine et on continue les digestions.

8e jour. — On pèse l'albumine des ballons nº 8 à 10 et on voit de nouveau qu'il n'y a aucune quantité dissoute. On précipite la liqueur du ballon nº 8, en procédant comme avec les ballons précédents. Quand on recommence les digestions avec la nouvelle liqueur peptique, on voit ici

encore que les phénomènes protéolytiques recommencent, mais ils sont à peine appréciables.

Dans les ballons n° 9 et 10, on change l'albumine et on continue les digestions.

9e jour. — On pèse l'albumine des ballons n° 9 et 10 et on voit qu'il n'y a aucune quantité dissoute. On précipite la liqueur du ballon n° 9 et quand on recommence les digestions avec la nouvelle liqueur peptique, on voit que les phénomènes protéolytiques ne recommencent plus.

Dans le ballon n° 10, on change l'albumine et on continue la digestion.

10e jour. — On pèse l'albumine du ballon n° 10 et on voit qu'il n'y a rien de dissous. On précipite la liqueur et quand on recommence les digestions, avec la nouvelle liqueur peptique, on voit que les phénomènes protéolytiques ne recommencent plus comme dans le ballon n° 9.

Conclusions.

De ces expériences il résulte que :

A/ *Le ferment change d'état pendant la réaction chimique, et à la fin de la fermentation il a complètement disparu. Par conséquent il ne jouit pas des propriétés d'un agent catalysateur, puisque celui-ci doit se retrouver absolument intact, à la fin de la réaction comme au début.*

B/ *Le ferment n'étant pas un agent catalysateur, la fermentation ne peut sûrement être considérée comme une catalyse. Donc entre la catalyse et la fermentation il y a une différence très nette.*

C/ *La fermentation est une réaction chimique caractérisée par la transformation des substances fermentescibles, en d'autres produits, sous l'influence des ferments, qui jouent le rôle des réactifs.*

Mars 1908.

Aus der Klinik Prof. Maixners in Prag.

Die Herzwirkung der Methylderivate des Xanthins

von

Dr VÁCLAV PLAVEC,

emerit. Assistent der Klinik.

Es gibt zwar eine ganze Reihe von Methylderivaten des Xanthins, aber für den Kliniker haben heute nur das Koffein, das Theobromin und das Theophyllin eine praktische Bedeutung. Bei allen drei Präparaten wird eine diuretische Wirkung angenommen; was aber ihre exzitomotorische Wirkung auf den Herzmuskel anbelangt, ist die Ansicht der Kliniker bis jetzt keine einheitliche.

Das Koffein, das von den genannten drei Präparaten am längsten bekannt ist, wurde gleich bei seiner Einführung in die interne Therapie (in den sechziger Jahren) nicht bloss als Diuretikum, sondern auch als Kardiakum erklärt (Koschlakoff und Botkin, Jaccoud) (1). Wie ich aus den von Schroeder (2) angefürhrten Belegen ersehe, wurde zwar die direkte kardiale Wirkung des Koffeins von einigen Seiten bezweifelt, anderseits aber wurde diese Wirkung so oft klinisch (Huchard, Lépine (1) u. a.) und experimentell (Wagner (3), Dreser (4), Pouchet (5) u. a. m.) nachgewiesen, dass man an derselben nicht zweifeln konnte. Der unwiderlegliche Beweis von der direkten exzitomotorischen Herzwirkung des Koffeins wurde in der jüngsten Zeit durch die Versuche von Hedbom (6 und Loeb (6) am isolierten Säugetierherzen erbracht, an welchem beide Autoren nach Zusatz von Koffein zu dem durchströmenden

(1) H. Huchard: *Traité clinique des maladies du cœur et de l'aorte* (3 édit.). T. III, p. 759 (1904).

(2) W. v. Schroeder: Archiv f. exper. Pathol. u. Pharm. 1887. Bd. 22. S. 39.

(3) J. Bock: Ibidem. Bd. 43. S. 367 (1900).

(4) H. Dreser: Ibidem. Bd. 24. S. 233 (1888).

(5) Pouchet: Leçons de pharmacodynamie, 1904. T. IV. S. 1054 u. folg.

(6) O. Loeb: Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmak 1904. Bd. 51. S. 64.

Blute eine Steigerung der Pulsfrequenz und des Pulsvolumens beobachteten und graphisch aufzeichneten. Bei Versuchen an unversehrten Tieren mit natürlichem Blutkreislauf (BOCK (1), THOMAS (2) u. a.) beobachtete man zwar nach Koffeininjektionen eher eine Ab- als eine Zunahme des Pulsvolumens, aber es lässt sich nicht leugnen, dass die Versuche am isolierten Herzen, wo die Verhaltnisse viel einfacher sind, eine entscheidende Bedeutung besitzen. Ich komme später auf diesen scheinbaren Widerspruch noch einmal zurück und werde mich bemühen, ihn aufzuklären.

Bei den beiden anderen Derivaten, dem Theobromin und Theophyllin, hat sich die Erkenntnis der direkten Herzwirkung nur langsam Bahn gebrochen.

Vom Theobromin, das erst vor 20 Jahren durch die experimentelle Arbeit von SCHROEDER (3) unter unsere pharmazeutischen Mittel eingereiht wurde, hat man lange behauptet, dass es im Gegensatze zum Koffein auf das Herz überhaupt nicht wirke, sondern dass es ein reines Diuretikum sei. Die Ursache für diese Annahme beruhte darin, dass SCHROEDER selbst auf Grund seiner Versuche die Herzwirkung des Theobromins ausdrücklich ausschloss.

IMPENS (4) hat zwar später gefunden, dass die Amplitude der Herzbewegungen nach Theobromin grösser werde, gab aber zugleich an, dass die absolute Kraft der einzelnen Kontraktion sinke. Als hierauf das Theobromin auch klinisch erprobt wurde, wurde fast allgemein konstatiert, dass bei kardialen Oedemen nicht allein die Diurese, sondern auch die Herztätigkeit zunimmt; trotzdem hat die Mehrzahl der Kliniker unter Hinweis auf die Versuche SCHROEDERS die direkte Herzwirkung des Theobromins bestritten und die Kräftigung der Herzaktion durch das Schwinden der Oedeme i. e. durch die Erleichterung der Zirkulation erklärt. Nur ganz allmählig wurden Stimmen laut, dass auch das Theobromin analog dem Koffein eine direkte Herzwirkung bezitze (HOFFMANN, PAWINSKI, ASKANAZY u. a. (5)), und heute gibt es schon eine ganze Reihe von Ärzten, welche diese Ansicht vertreten, wodurch es geschah, dass das Theobromin jetzt gegen dyspnoische Zustande auch bei Abwesenheit von Oedemen häufig verordnet wird.

In einer über jeden Zweifel erhabenen Weise hat LOEB (6) die

(1) I. BOCK : Archiv f. exper. Pathol. u. Pharm. 1887. Bd. 43. S. 367 (1900).

(2) POSNERS Jahresberichte. 39 Jahrg. S. 693 (1904).

(3) W. v. SCHROEDER : Archiv f. exper. Pathol. u. Pharmak. 1888. Bd. 24. S. 85.

(4) E. IMPENS : *Contrib. à l'étude des prépar. solubles de la theobromine.* Thèse de Bruxelles. 1901. S. 39.

(5) V. PLAVEC : Archiv internat. de pharmac. et de thér. 1904, vol. XIII, p. 275 (böhmisch : Klinický sborník 1903. T. IV, p. 91).

(6) O. LOEB : Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmak. 1904. Bd. 51. S. 64.

exzitomotorische Wirkung des Theobromins nachgewiesen, als er bei seinen Versuchen am isolierten Säugetierherzen dem durchströmenden Blute Theobromin zusetzte. Trotz mehrfacher Wiederholung des Experimentes zeigte es sich doch stets, dass nicht nur die Frequenz, sondern auch die Intensität der Kontraktion wesentlich zunahm.

Bock (1) und Thomas (2) haben nach Theobrominjektionen wieder eine Abnahme der Herzamplitude beobachtet; aber von ihren Experimenten gilt dasselbe, was ich beim Koffein gesagt habe.

Ähnlich sie mit dem Theobromin verhält sich die Sache mit dem Theophyllin, das auf Veranlassung Schmiedebergs zum erstenmale von Ach (3) an Kaninchen versucht wurde. Ach richtete seine Aufmerksamkeit verwiegend auf die diuretische Wirkung, da er auf dem Boden der Schroederschen Lehre stand, dass die Purinderivate reine Diuretika seien.

Einem allseitigen Studium unterzog das Theophyllin erst Dreser (4), der konstatierte, dass dasselbe auf den quergestreiften Muskel zwar in gleicher Weise wirke wie das Koffein, bezüglich der Wirkung auf die Herzarbeit aber ausdrücklich hervorhob, dass er nach dem Theophyllin keine Zunahme der absoluten Kraft des Herzmuskels oder des Umfanges der Kontraktion beobachtete (5).

Minkowski (6), der gleich darauf das Theophyllin bei hydropischen Kranken prüfte, fand zwar in manchen Fällen eine entschiedene Besserung der Herztätigkeit, hält aber diese Besserung unter Hinweis auf die Erfahrungen Dresers für eine indirekte Folge der Erleichterung des Blutkreislaufes. In ähnlicher Weise sprachen sich noch mehrere andere Kliniker aus, ja einige derselben haben jedwede Einwirkung des Theophyllins auf das Herz bestritten.

Andererseits gibt Pouchet (7) an, das Theophyllin übe auf das Herz der Kalt- und Warmblütter fast ganz derselbe Wirkung aus, wie das Koffein. Bei Fröschen mit entblössten Herzen beschreibt er nach Injektion des Theophyllins ausser einer Steigerung der Erregbarkeit auch eine deutliche Zunahme der Amplituden. Nach Injektion von Koffein beobachtete er beim chloralisierten Hunde eine Steigerung der

(1) I. Bock : Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmak. 1887. Bd. 43. S. 367 (1900).
(2) Posners Jahresberichte. 39 Jahrg. S. 693 (1904).
(3) N. Ach : Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmak. 1900. Bd. 44. S. 319.
(4) H. Dreser : Pflügers Archiv. 1904. Bd. 102. S. 1.
(5) Dasselbe sagt er vom Theobromin.
(6) O. Minkowski : Therapie der Gegenwart. November 1902.
(7) Pouchet gebraucht, gleich der Mehrzahl der Autoren, die Bezeichnung « Theocin »; dies ist aber nur der Handelsname des von der Firma F. Bayer u. Co. in Elberfeld fabrizierten Theophyllins. Dieses Praeparat ist sehr verbreitet und auch unsere klinischen und experimentellen Erfahrungen basieren ausschlieslich auf diesem Praeparat.

impulsiven Energie des Myokards; nach seiner eben angeführten Äusserung gibt also dasselbe auch für das Theophyllin. Erst nach grossen Gaben erfolgt bei beiden Praeparaten eine Kontraktur des Myokards, eine abnahme der Amplitude und Stillstand des Herzens in Systole.

Auch THOMAS schliesst aus seinen Versuchen, das Theophyllin wirke auf den Blutdruck und das Herz ebenso wie das Koffein; doch hat er im Gegensatz zu POUCHET nicht einmal bei dem zweiten Praeparat exzitomotorische Wirkungen auf die Herzarbeit beobachtet. Nach Injektion sah er zuerst eine Verlangsamung (infolge zentraler Vagusreizung), später Unregelmässigkeit, Beschleunigung der Herzaktion. Gleich im Beginne der Wirkung beschreibt er eine Abnahme des Volumens und der Amplitude des Herzens, angeblich infolge Verlustes der Elastizität des Myokards.

Interessant und nicht ohne Bedeutung ist, bezüglich der exzitomotorischen Wirkung der Methylderivate des Xanthins, die Ansicht SCHMIEDEBERGS. Seiner Ansicht muss man eine besondere Beachtung schenken, weil sich einerseits SCHMIEDEBERG (1) selbst mit dem Studium der Wirkung des Koffeins und seiner beide verwandten Praeparate beschäftigt hat, andererseits ACH und BOCK bei ihm mit diesen Substanzen gearbeitet haben. SCHMIEDEBERG gibt zu, dass nicht nur das Koffein, sondern auch das Theobromin und das Theophyllin auf den quergestreiften Muskel wirken. In kleinen Dosen, die eben eine Wirkung hervorzurufen im stande sind, sollen diese Substanzen im Muskel die Umwandlung der potentiellen chemischen Energie in mechanische Energie steigern, wodurch es geschieht, dass der Muskel, insolange keine Erschöpfung der Kräfte eintritt, auf denselben Reiz hin eine grössere Arbeit leistet. Bei grösseren Dosen stelle sich eine Verkürzung und Erstarrung des Muskels ein, was sich in der Übergangsperiode auch an myographischen Kurven konstatieren lasse. Dasselbe gilt nach SCHMIEDEBERG auch für den Herzmuskel : die Entstehung der einzelnen Kontraktionen des Herzens ist erleichtert, sodass die Frequenz steigt, zugleich aber zeigt der Muskel eine grössere Neigung zur Verkürzung als zur Ausdehnung, wodurch die diastolische Dilatation des Herzens resp. das Pulsvolumen kleiner wird. Schliesslich entstehe auch Arythmie, eventuell auch ein echtes *Delirium cordis*. SCHMIEDEBERG glaubt nicht, dass diese Herzwirkung der genannten Purinderivate die Diurese unterstützen könnte, sondern nimmt im Gegenteil an, dass sie dieselbe eher schädigen könnte, weil die diuretische Wirkung der Digitalis, die wirklich kardialen Ursprunges sei, einzig und allein in der Zunahme des Pulsvolumens ihren Ursprung habe.

Dass grosse Dosen von Koffein und der anderen verwandten Prae-

---

(1) O. SCHMIEDEBERG : D. Archiv f. klin. Medizin. Bd. 82. S. 393.

parate wirklich das Pulsvolumen verkleinern, ist nicht zu bezweifeln und zu dieser Erkenntnis gelangten auch viele andere Autoren, die sich mit dem experimentellen oder klinischen Studium dieser Substanzen beschäftigt haben (THOMAS, POUCHET u. a.), es ist aber die Frage, ob sich die Verkleinerung des Pulsvolumens auch bei kleinen Gaben einstellt, bei denen auch nach SCHMIEDEBERG eine bestimmte exzitomotorische Wirkung zu konstatieren ist. Übrigens kann, solange die Verkleinerung des Pulsvolumens nicht abnormal oder mit Arythmie verbunden ist, keine Zirkulationstörung eintreten. Muss doch durch gleichzeitige Zunahme der Frequenz die Wirkung des verkleinerten Volumens mehr als paralysiert werden. Zu Erwägung dieses Umstandes nimmt LOEB an, das alle bisherigen Versuche den Beweis erbracht haben, dass das Koffein die Herztätigkeit steigere, selbst wenn man die Zunahme des Volumens, die er und HEDBOM beobachtet haben, nicht in Rechnung ziehe.

Selbst SCHMIEDEBERG gibt zu, dass bei Kranken mit Herzfehlern, bei denen das Herz immer mehr oder meniger dilatiert und der Herzmuskel erschlafft ist, die verkürzende Wirkung des Koffeins, Theobromins und Theophyllins für Herztätigkeit von Nutzen sein könne. Ich kann daher nicht recht begreifen, warum er andererseits bei der diuretischen Wirkung dieser Praeparate so ganz und gar jeden Kardialen Einfluss ansschliesst.

Nach SCHMIEDEBERG besteht demnach ein Unterschied in der Wirkung der Methylderivate des Xanthins auf das gesunde und das kranke Myokard. Einer ähnlichen Ansicht ist auch KREHL (1), denn er bemerkt, dass, wenn man die Herzwirkung des Theobromins feststellen wollte, man dasselbe am kranken Menschen mit der vollen Schärfe der experimentellen Forschung erproben müsste. Die negativen Resultate an gesunden Tieren (COHNSTEIN u. a.) will er nicht bestreiten, aber die klinischen Beobachtungen ASKANAZYS und PAWIÑSKYS sprächen unzweifelhaft für einen exzitomotorischen Einfluss des Theobromins auf das Herz.

Mit diesen Anschauungen stimme ich vollkommen überein und erblicke in der Behauptung von der quantitativ verschiedenen Wirkung auf den Kranken und gesunden Muskel einen wesentlichen Bestandteil der Lehre von der exzitomotorischen Wirkung der Methylderivate des Xanthins. Diese Anschauung habe ich bereits vor 5 Jahren verteidigt, als ich meine Abhandlung über das Theobromin schrieb (2). Ich habe damals ausdrücklich darauf hingewiesen, dass sich eine Steigerung der Herzaktion

---

(1) L. KREHL : Nothnagels Path. u. Ther. Bd. XV. T. 1. S. 198.

(2) V. PLAVEC : Arch. intern. de Pharmac. et de Thér. 1904. Vol. XIII, p. 275. (böhmisch : Klinický sborník 1903. T. IV, p. 9.)

nach Theobromin nur bei mit Herzfehlern behafteten und keineswegs bei gesunden Menschen konstatieren lasse. Da die motorische Funktion des kranken (ermüdeten oder degenerierten) Muskels herabgesetzt, sein Molekularzustand verändert ist, nahm ich an, dass das Theobromin als ein lokal wirkendes Muskelgift seine exzitomotorische Wirkung umso mehr zur geltung bringen könne. Diese Anschauung will ich auch heute verteidigen und sogar auf die übrigen Methylderivate des Xanthins, insofern sie überhaupt eine exzitomotorische Wirkung besitzen, ausdehnen.

Was für ein Unterschied in der Reaktion auf die Methylderivate des Xanthins zwischen einem kranken und einem gesunden Menschen besteht, erkennt man, wenn man darauf achtet, wie ein Glas starken Kaffees bei Entkräftung oder eine Koffeininjektion im Kollaps wirkt. Die Arterien, die vordern halbleer waren, füllen sich, der Puls, der vordem kaum tastbar war, wird gross, hart, sodass man mit Recht behaupten kam, dass die Herztätigkeit, was den Umfang des Pulses betrifft, nur ein Mehrfaches gestiegen ist. Dieselbe Dosis Koffein bewirkt bei einem gesunden Individuum zwar eine geringe Erregung, aber der Puls weist ausser einer leichten Zunahme der Frequenz oder einer unbedeutenden Arythmie keinerlei Veränderungen seines Umfanges auf.

Nach meinen Erfahrungen aus der Klinik des Herrn Prof. Maixner ist dieses Misverhältnis in der Wirkung auf den gesunden und auf den mit einer Herzadynamie behafteten Menschen beim Theobromin und Theophyllin noch grösser als beim Koffein.

Wenn ein gesunder Mensch (1) täglich 3 mal 0.3 gr. reinen Theobromins oder 3 mal 0.2 gr. reinen Theophyllins erhielt, liess sich weder an der Qualität noch an der Frequenz des Pulses etwas Besonderes nachweisen. Allgemein war nach Theobromin überhaupt nichts, nach Theophyllin nur selten einmal irgend ein Symptom von individueller Idiosynkrasie vorhanden (2).

Ganz anders äusserte sich die Wirkung des Theobromins und Theophyllins in den Fällen von vorgeschrittener Dekompensation des Herzens. Zwar gab es, ähnlich wie bei der Digitalis, zahlreiche Fälle, in denen beide Praeparate die Herztätigkeit nicht besserten, ja es fanden sich sogar einzelne Fälle, in denen sich die Herztätigkeit, sei es nun infolge einer naturlichen Verschlimmerung der Krankheit oder vielleicht direkt infolge der Wirkung dieser Praeparate, verschlechterte, trotzdem aber gab es anderseits noch mehr Fälle, in denen die Herztätigkeit in auffallender Weise stieg, die Dilatation der Kammern abnahm, die

---

(1) Eventuell ein Patient mit sonst unversehrter Körperkraft und unveränderten Zirkulationsorganen.

(2) V. Plavec : Die Heilkunde, 1906. Jg. X. H. 6. (böhmisch : Casopis ceskych lekaru 1906, p. 668.)

Atemnot verschwand, die Oedeme zurückgiengen und eine Kompensation des Herzfehlers nicht bloss für die Dauer der Darreichung der « Diuretika » des Theobromins und Theophyllins, sondern auch für die Dauer vieler Monate erzielt wurde.

Das Verschwinden der Oedeme in derartigen Fällen kann ich nicht, wie andere Autoren, als Ursache der erhöhten Herztätigkeit ansehen, weil die Zunahme der Diurese und der Herzaktion gleichzeitig erfolgte und die Atemnot vor einer offenkundigen Abnahme der Oedeme verschwand; oft waren die Oedeme so gering, dass sie auf die Adynamie des Herzens keinen Einfluss ausüben konnten. Wenn sich übrigens durch das Verschwinden der Oedeme die Herztätigkeit auch teilweise bessern würde, könnte auf diese Weise doch niemals eine wirkliche Dekompensation dauernd beseitigt werden, weil die Oedeme die Folge und nicht die Ursache derselben sind.

Es ist nicht bekannt, dass sich eine Dekompensation des Herzens durch ein blosses Ablassen der Oedeme, z. B. durch eine Punktion, wenn auch nur für eine kurze Zeit ausheilen liesse. Wenn bei einer solchen Eucheirese die Kompensation nicht auf eine andere Weise hergestellt wird, bilden sich die Oedeme sofort wieder von neuem.

Aus der klinischen Beobachtung geht also hervor, dass die exzitomotorische Wirkung der Methylderivate des Xanthins auf die Herzaktion zwar nur in den Fällen von dauernder Adynamie zur Geltung kommt, dass sie aber dann so gross ist, dass sie nicht bezweifelt werden kann. Ja, das Theobromin, an dessen Herzwirkung die experimentelle und die klinische Wissenschaft so oft gezweifelt haben und noch zweifelte, und besonders das Theophyllin, das fast allgemein als ein « reines und echtes Diuretikum » hingestellt wird, können gegebenen Falls eine Kompensation auch dann noch herbeiführen, wenn Digitalis, Strophantus, Koffein und andere anerkannte Kardiaka nicht geholfen haben.

Da aber, wie schon KREHL gesagt hat, die klinische Beobachtung nicht dieselbe Sicherheit gewährt wie ein einfaches Experiment, entschloss ich mich, die erwähnten Methylderivate des Xanthins (Koffein, Theobromin und Theophyllin) sowie das Xanthin selbst mit Hilfe der Langendorffschen Methode (1) am isolierten Säugetierherzen eingehend zu überprüfen und womöglich die Bedingungen ihrer exzitomotorischen Wirkung festzustellen.

Diese Versuche begonnen im Herbst des Jahres 1905 und dauernten bis zum Sommer 1906. Inzwischen hat aber die Frage der kardialen

(1) O. LANGENDORFF : Pflügers Archiv, 1895. Bd. 61. S. 303. — Die fortschreitende Entwicklung dieser wichtigen und interessanten Methode hat A. VELICH (Münchener med. Woch. 1903 No 33) gut skizziert.

Wirkung der Methyldeaivate des Xanthins auch das Interesse anderer Kreise geweckt und da verdient an erster Stelle jene Arbeit hervorgehoben zu werden, welche die Herren LUCIEN BECO (Vorstand der medizinischen Klinik in Liège) und sein Assistent LÉON PLUMIER durchgeführt haben. Von ihren Experimenten erfuhr ich erst nach Neujahr 1907 und ersah aus dem mir freundlichst zugesandten Separatabdruck (1), dass ihre Experimente das bestätigen, was ich auf Grund der klinische Erfahrung vermutet und inzwischen durch eigene Versuche auch selbst bewiesen habe, dass nämlich die Methylderivate des Xanthins keine echten, das Nierenepithel reizenden Diuretika seien, sondern dass sie die Diurese teils durch Dilatation der Nierengefässe (2), teils durch Verstärkung der Herzaktion steigern.

Sie haben am isolierten Hundeherzen, das durch ein Gemisch aus defibrinierten Blut und der Lockeschen Flüssigkeit ernährt wurde, nachgewiesen, dass ein Zusatz von reinem Theophyllin oder dessen Verbindung mit Natriumazetat, eventuell von Agurin die Herztätigkeit auffallend steigere. Aus dem Diagramm des Versuches mit Theophyllin ist zu ersehen, dass nicht bloss die Frequenz, sondern auch die Grösse der einzelnen Kontraktionen zunimmt und zwar annährend um das Doppelte.

BECO und PLUMIER begnügten sich mit dem Faktum, dass das Theophyllin und das Theobromin die Mächtigkeit und die Zahl der Kontraktionen steigern, ohne die Bedingungen dieser Wirkung näher festzustellen. Unsere Versuche sind in dieser Hinsicht viel eingehender und daher trotz der im übrigen übereinstimmenden Resultate, immer noch interessant. Übrigens glaube ich, dass sie, auch wenn sie nur eine Wiederholung der früheren Experimente bedeuten würden, wegen des stritigen Charakters der ganzen Frage an pharmakologischem Interesse nichts einbüssen dürften.

BECO und PLUMIER sprechen sich in der Weise aus, als ob die exzitomotorische Wirkung der genannten Praeparate unter allen Umständen konstant wäre. Bei unseren Versuchen aber erwies sich die exzitomotorische Wirkung nicht nur des Theobromins und Theophyllins, sondern auch des Koffeins ebenso ungleich und von Umständen abhängig wie in der klinischen Praxis. Erst durch Vergleichung einer grösseren Anzahl von Experimenten, die in verschiedener Weise durchgeführt wurden, gelang es mir, die Bedingungen der exzitomotorischen Wirkung jener Praeparate auf die Herzaktion näher zu bestimmen und sie auf diese Weise erst gleichsam konstant zu machen.

Aus diesen Gründen kann ich mich bei der Beschreibung meiner

---

(1) Erscheint als besondere Abhandlung.

(2) L. BECO et L. PLUMIER : Journal de physiol. et de pathol. générale. 1906, No 1.

Versuche mit dem blossen Hinweiss auf die Methode LANGENDORFFS nicht begnügen, sondern muss ihre Durchführung näher beschreiben. Ausserdem ist dies noch aus dem Grunde notwendig, weil meine Methode von der ursprünglichen und allgemein üblichen in mancher Hinsicht abweicht.

Ich benützt zu meinen Versuchen zumeist Hundeherzen (36), zum Teil auch Katzen- (9) und Kaninchenherzen (6). Fast an jedem Praeparat wurden zumindest zwei Versuche angestellt, manchmal aber auch vier, sodass die Gesamtsumme der mit den Methylderivaten des Xanthins angestellten Versuchen nahe an 200 beträgt. Über 115 Versuche habe ich Protokolle angelegt.

Da das Chloral und auch andere Narkotika die peripheren Gefässe, eventuel auch den Herzmuskel selbst alterieren können, tötete ich die Tiere ohne Narkose durch rasche Entleerung des Blutes aus der Karotis. Hierauf durchspülte ich im Stadium der Asphyxie den ganzen Körper durch die Jugularvene mit physiologischer (0.9 % iger) Lösung etwa von der vierfachen Menge des ursprünglich gewonnenen Blutes. Beide Blutportionen (die erste unverdünnte und die zweite verdünnte) fieng ich gesondert auf und filtrierte sie durch Leinwand, zu welchem Behufe beide Blutportionen — speziell die erste, noch nicht verdünnte Portion — noch weiter mittelst der Ringerschen Flüssigkeit, die nach der Methode Lockes mehr weniger modifiziert war, verdünnt werden.

Bei Hunden beobachtete ich keinen Unterschied zwischen dem ersten und zweiten Blute, insofern die Verdünnung bei beiden gleich war. Bei Kaninchen aber hatte das zweite (letzte) Blut eine auffalende vasokonstriktorische Wirkung auf die Herzgefässe. Das Katzenherz zeigte diese Wirkung nur in geringem Grade. Deswegen mischte ich bei Hunden und Katzen oft die erste und zweite Blutportion, während ich bei Kaninchen in der Regel nur die erste Blutportion verwendete.

Nach Eröffnung des Thorax und des Perikards und Unterbindung beider Lungenhili führte ich noch in situ in die obere und untere Hohlvene Glaskanülen ein, die ungefähr dasselbe Lumen hatten wie die Venen selbst. In die Aorta und Arteria pulmonalis führte ich die Kanülen erst nach vollständiger Entfernung des Herzens ein u. zw. in die Aorte eine Kanüle, die enger, und in die Pulmonalis eine solche, die breiter war als das Gefäss. In der letzteren reichte die Kanüle bis unterhalb die Klappen, in der Aorta endigte sie über den Klappen. Deswegen strömte das Blut im rechten Herzen nach jeder Systole durch die Pulmonalis wieder ins Herz zurück, während das linke Herz, bei gutem Schluss der Aortenklappen, während der ganzen Versuchsdauer vollkommen leer blieb. Beide Kanülen hatten gleich über dem Herzen zwei Seitenöffnungen; bei der Aorta die erste behufs Zuleitung der ernährenden Flüssigkeit

und die zweite zu dem Zwecke, um Luft oder Flüssigkeit aus dem linken Herzen, eventuell auch aus dem zuführende System herauszuleiten; bei der Pulmonalis diente die erste Öffnung zur Ableitung der überschüssigen flüssigkeit aus dem rechten Herzen, die andere führte zu dem Quecksilbermanometer (isometrische Registratur).

Die Fortsetzung der breiten Kanüle in der Pulmonalis bildete eine noch breitere Röhre, die je nach der Grösse der Herzens 1/2—2 cm. breit und 10—20 cm. lang und an ihrem Ende mittelst eines Kautschukrörchens mit Mareys Registriertrommel verbunden war. Bei der Kontraktion des rechten Herzens ergoss sich der Hauptstrom der ausgepumpten Flüssigkeit in diese Röhre und verursachte auf diese Weise eine proportionale Bewegung der Schreibfeder bei der Mareyschen Trommel.

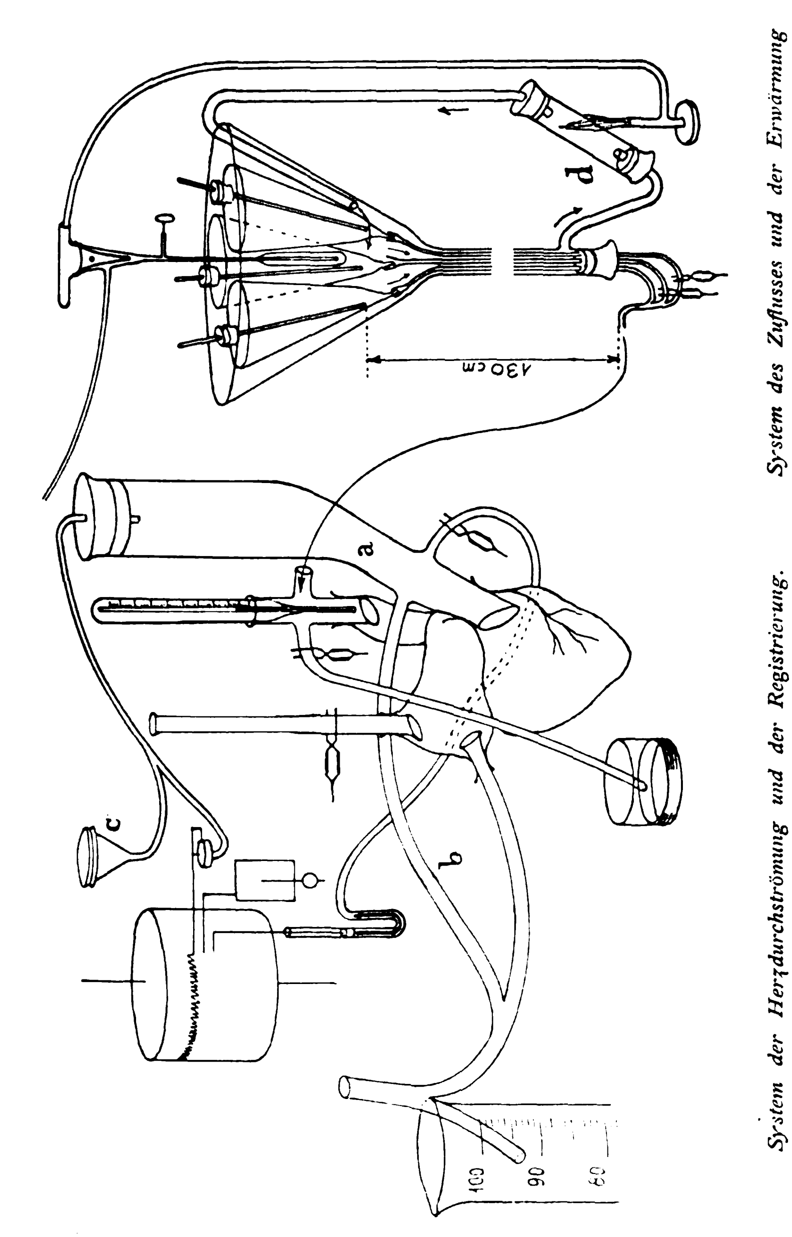
In das gerade Ende der Aortenkanüle wurde ein Thermometer mit Zehntelgrad-Einteilung eingeführt, dessen längliches Quecksilberbehältnis ganz in den Strom der Ernährungsflüssigkeit eingetaucht war.

Die in die untere Hohlvene eingeführte (horizontal liegende) Kanüle diente ebenfalls für den Abfluss der Ernährungsflüssigkeit aus dem rechten Herzen. Die in die obere Hohlvene eingeführte (senkrecht stehende) Kanüle wurde nach Verdrängung der Luft aus dem rechten Herzen durch die Ernährungsflüssigkeit durch eine Klemme abgesperrt.

Das Herz selbst hieng beim Versuche frei an den Kanülen, sodass alle Ostien und Hohlräume des Herzens ihre normale Lage hatten. Die Regiestrierung hat die Herzbewegungen nicht behindert und das Myokard nicht geleizt, wie das bei anderen Methoden der Fall ist. Die registrirte Herzarbeit war ausserdem der natürlichen wo möglich ähnlich.

Die Ernährungsflüssigkeit wurde aus drei trichterförmigen Gefässen (von 500 cm^3 Inhalt) (1) zugeleitet, die frei in dem Wasser-eines grossen Trichters schwammen, dessen unteres Ende in eine breite (mit Kautschuk umhüllte), 1 m. lange Glasröhre übergieng. In dieser breiten Röhre befanden sich 3 enge Röhren, nämlich je eine von einem Gefäss. Diese schmalen Röhrchen wurden in der breiten Röhre beständig von Wasser umspüllt, das dieselbe Temperatur hatte wie jenes in dem grossen Trichter, sodass die Ernährungsflüssigkeit auf dem Wege zum Herzen nicht auskühlen konnte. Am unteren Ende der breiten Röhre traten alle drei schmale Röhren durch einen Kautschukpfropfen und vereinigten sich kurz darauf, direkt vor der Aortenkanüle zu einer einzigen Röhre. Vor dem Experiment wurden alle 3 schmale Röhren vor der Aortenkanüle durch Klemmen verschlossen. Durch Wechseln der Klemmen konnte man den Inhalt des einen Trichters mit dem Inhalt des anderen

(1) Umgekehrte Erlenmayersche Kolben.



System der Herzdurchströmung und der Registrierung.

a, b = Verschlusstelle während der isometrischen Registrierung.
c = Dämpfungsvorrichtung.

System des Zuflusses und der Erwärmung der Ernährungsflüssigkeit (relativ stark verkleinert).

d = Messingrohr.

abwechseln, ohne den Strom der Ernährungsflüssigkeit, ihren Druck oder ihre Temperatur zu ändern.

Da alle 3 Flaschen (Trichter) mit der Ernährungsflüssigkeit nach Art der Mariotteschen Flasche verschlossen waren, so kann ich wohl behaupten, dass der Druck der Ernährungsflüssigkeit (etwa 100 mm. Hg.) wirklich konstant war. Manchmal musste bei ganz jungen Herzen wegen haemorrhagischer Infiltration des Myokards durch Höherlagerung des Herzens gegen die Lage der Flaschen um 30 cm. der ursprüngliche Druck herabgesetzt werden.

Vor Einführung der Ernährungsflüssigkeit in die Aorta musste alle Luft aus dem Herzen und seinen Gefässen entfernt werden. Dies geschah durch Füllung des Herzens mit Ringers flüssigkeit in der Richtung von der Vena cava superior bei einem Wasserdruck von etwa 30 cm. Hiebei füllte sich zuerst das rechte Herz, dann gieng die flüssigkeit durch das venöse System in die Koronararterien und daher in das linke Herz über. Schliesslich tropfte sie durch die Seitenöffnung der Aortenkanüle heraus. Auf diese Weise wurde alle Luft aus den Arterien und dem linken Herzen vertrieben. In den Venen blieben zwar einige Luftblasen zurück, wurden aber durch die von der Aorta zuströmende Ernährungsflüssigkeit leicht vertrieben. Diese Ausstreibung der Luft aus den Herzgefässen halte ich für eine wichtige Bedingung eines guten Experimentes; denn, wenn die Füllung nur von der Aorta aus erfolgt, entstehen immer kleine Luftembolien, wodurch die Funktion des Myokards wesentlich leidet.

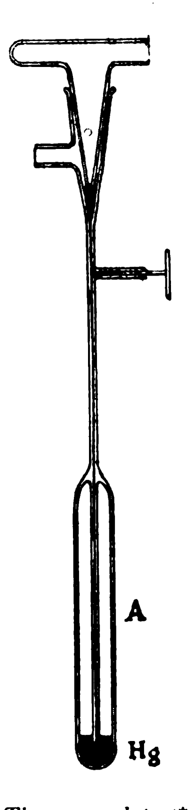
Sobald die Ernährungsflüssigkeit aus der Aorta durch das Gefässsystem ins rechte Herz gelangt war, füllte d. i. schwellte sie dasselbe zu seinen normalen Grenzen und floss sodann teils durch die untere Hohlvene, teils durch die Seitenöffnüng der Pulmonalkanüle ab. Beide Wege vereinigten sich in einer Entfernung von einigen Centimetern vom Herzen zu einem einzigen Wege und auf diesem gieng die abfliessende Flüssigkeit in den Messzylinder. Damit das rechte Herz unter einem konstanten Drucke gefüllt sei, endigte das Abflussrohr durch ein umgekehrtes Y Rohr, welches dem Rande des Messzylinders reiterförmig aufsass. Durch die Lage jener Stelle, wo sich alle drei (geöffneten) Rohre vereinigen, war die Höhe des Wasserdruckes (4-6 cm.) im rechten Herzen gegeben.

Der Zylinder für die abgeflossene Flüssigkeit war graduiert und man konnte nach dem Steigen der zunehmenden Flüssigkeit die Schnelligkeit des Durchströmens durch das Herz mit der Hand in der Weise auf der Schreibfläche registrieren (1), dass alle 2-10 cm^3 verzeichnet wurden. Auch der Austausch der Ernährungsflüssigkeit (resp. der in derselben

(1) Durch Fingerdruck auf die Verbindungsröhe des Manometers für isometrische Registrierung.

enthaltenen Praeparate) wurde durch dieselbe Vorrichtung auf ein gegebenes Zeichen registriert.

Bei meinen Versuchen wurde nur die Tätigkeit des rechten Herzens resp. der rechten Kammer registriert u. zw. entweder *isotonisch,* bei freiem Abfluss der Flüssigkeit aus dem Rechten Ventrikel während der Kontraktion, oder *isometrisch,* wenn infolge Verschlusses der Kommunikation mit der Mareyschen Trommel und mit dem Messzylinder die rechte Kammer sich nicht entleeren konnte (oder nur ganz wenig in das nünmehr geöffnete Manometer). Gegen die Vorkammer schloss sich bei der Kontraktion die Kammer auf natürlichem Wege durch Schluss der Tricuspidalis. In dem letzteren Falle entleerte sich das in das rechte Herz einfliessende Blut gleich aus der Vorkammer. Die Exkursionen des Manometers waren manchmal so gross, dass sie eine bis 8 cm. hohe Quecksilbersäule betrugen. Auch bei der isotonischen Registrierung waren die Exkursionen auf der Mareyschen Trommel gross, sodass ich zwischen diese und das Herz einen Dämpfer einschieben musste, i. e. einen Glastrichter mit breiter Öffnüng, der durch eine Kautschukmembran luftdicht verschlossen war.



Thermoregulator(*)

Hg = Quecksilber.
A = Alkohol (füllt den ganzen übrigen Raum oberhalb des Quecksilbers aus, sodass die Regulierung dem barometrischen Druck nicht unterliegt).

Die isometrische Registrierung wurde immer nur einige Sekunden lang durchgeführt, wenn die Herztätigkeit konstant geworden war u. zw. bei einer jeden neuen Zusammensetzung der Ernährungsflüssigkeit ein-bis zweimal.

Die Temperatur des Wassers wurde in dem grossen Trichter und in dem ganzen zirkulären Erwärmungsystem durch einen Thermoregulator (eigener Konstruktion) auf einer konstanten Höhe erhalten. Seine Konstruktion und Tätigkeit ist aus der beiliegenden Skizze leicht zu erkennen. Dieser Regulator ist so empfindlich, dass schon 0.1° eine derartige Erhebung des Quecksilber-Niveaus erzeugt, dass der Zutritt von Gas im Hauptwege vollkommen verhinderd wird. Infolge der Empfindlichkeit des Regulators liessen sich die Temperaturschwankungen des Wassers im

(*) Die Erzeugung solcher Regulatoren hat sich mit meinem Erlaubniss die Firma *J. u. Fr. Zahradnik* (Fabrik der wissenschaftlichen Apparate in Prag, Schulgasse Nr. 5) schützen lassen. Ausser Alkohol kann zur Füllung auch Azeton oder Toluol benützt werden.

Trichter bis auf 0.3° herabsetzen. Die Temperatur der Ernährungsflüssigkeit in den Gefässen zeigte gewiss noch kleinere Schwankungen (1).

Nachdem ich die Ernährungsflüssigkeit in die einzelnen Gefässe eingegossen hatte, wartete ich stets solange, bis sich die Temperatur im grossen Trichter vollständig ausglich und konstant wurde. Ursprünglich erwärmte ich die Ernährungsflüssigkeit auf die Temperatur kleiner Tiere d. i. auf 39°; aber ich überzeugte mich später, dass das herausgenommene Herz bei dieser Temperatur eine bedeutende Akceleration (sogar bis über 200) aufwies, während es bei niedrigen Temperaturen mehr in einem normalen Tempo arbeitete und deswegen setzte ich die Regulierung auf 35° herab. GROSS (2) gibt ebenfalls an, dass die Temperatur bei seinen (bei HERING ausgeführten) Versuchen 30-35° betragen habe.

Wie bereits erwähnt, verdünnte ich das Blut mit der Ringerschen Flüssigkeit nach der Modifikation von LOCKE (Na Cl. 0.9 %, KCl 0.04 %, $NaCO_2OH$ 0.03 %, $CaCl_2$ 0.02 %). Später liess ich das Calcium gewöhnlich weg, weil ich beobachtete, dass dasselbe das sogenannte Flimmern begünstigt und weil die exzitomotorische Wirkung der Methylderivate des Xanthins umso deutlicher zum Vorschein kam, je weniger die Ernährungsflüssigkeit Reizmittel, zu denen auch das Calcium gehört, enthielt.

Ich zweifle nicht daran, dass bei den Versuchen, bei denen zur Wiederbelebung des Herzens die reine Ringersche flüssigkeit (ohne Blut) verwendet wird, das Calcium unbedingt notwendig ist, weil hier die natürlichen Stimulantien des Blutes vollständig fehlen. Deswegen setzte ich bei allen starker (15-20 facher) Verdünnung des Blutes, namentlich bei Kaninchen, mit Erfolg kleine Mengen Calcium zu. Übrigens machte ich die Beobachtung, dass man die Reizwirkungen des Calcium (speziell das Flimmern) wesentlich abschwächen kann, wenn man die 1 %-ige Lösung des Natriumkarbonats oder Natriumbikarbonats mit entsprechender Menge der Calciumchloridlösung zuvor für sich versetzt; dadurch entsteht ein dichter Niederschlag von kohlensauerem Kalk, den man sodann ohne weiteren Zusatz von Alkalien der übrigen Ringerschen flüssigkeit zusetzt und auflösst.

Zwischen dem Calcium und Kalium besteht nach GROSS (2) u. a. in der Ringerschen flüssigkeit ein gewisser Antagonismus, sodass es den Anschein haben könnte, dass man zugleich mit dem Calcium auch das Kalium ausschalten müsse. Diese Regel dürfte wiederum nur für die reine Ringersche flüssigkeit gelten, da es sich bei unseren Versuchen

(1) In der Mehrzahl der bisherigen Versuche dieser Art wurde die Ernährungsflüssigkeit erst auf dem Wege zum Herzen erwärmt, indem dieselbe eine Glasspirale passierte, die in ein warmes Bad getaucht war. Bei dieser Art der Erwärmung muss die Temperatur der Ernährungsflüssigkeit schwanken, selbst wenn die Temperatur des Bades konstant wäre, weil oft die Stromgeschwindigkeit durch das Herz schwankt.

(2) E. GROSS : Pflügers Archiv 1903. Bd. 99. S. 264.

gezeigt hat, dass nach Ausschaltung des Kalium das Flimmern wiederum sehr hartnäckig wurde.

Nach unseren Erfahrungen zeigt ein jedes Präparat im Anfange der künstlichen Wiederbelebung Flimmern. Es handelt sich nur um die Dauer des flimmerns und um die Verhütung seiner Wiederkehr. Da ich die Beobachtung machte, dass das Flimmern umso dauernder beseitigt wird, je länger darauf folgende die regelmässige Herztätigkeit gedauert hat, liess ich im Beginne des Versuches eine grössere Menge des normalen, verdünnten Blutes das Herz passieren; wenn dass Flimmern inzwischen nicht von selbst aufhörte, brachte ich dasselbe nach der Methode von LANGENDORFF (1) zum Verschwinden, indem ich die Durchströmung für eine kurze Zeit einstellte. Dann wartete ich so lange, bis sich das Herz vollständig beruhigt hatte, worauf sich gewöhnlich nach einer kurzen Pause einige regulare, volle Kontraktionen einstellten (2). Jetzt stellte ich den Strom der Ernährungsflüssigkeit einigemal hinter einander auf eine kurze Zeit wiederher; wurde die reguläre Aktion dadurch verstärkt, liess ich den Strom dauernd fliessen.

Oft geschah es, dass das herausgenommene Herz seine Tatigkeit 4-6 Stunden fortsetzte. Nach der Pauzen, die zur Vorbereitung eines neuen Versuches notwendig waren, konnte ich an denselben Herzen die Methylderivate des Xanthins in verschiedenen Kombinationen einigemal nach einander prüfen. Wenn ich das Blut schon im woraus stark verdünnte, konnte ich zu einem jeden Versuche frisches nehmen; oft aber verwendete ich Blut, das bereits ein- oder zweimal das Herz passiert hatte (3). Ein solches Blut oxydierte ich vorerst von neuem durch Schütteln in der flasche (LANGENDORFF (1), verdünnte es darauf mit Ringersche Flüssigkeit oder mischte es anderem, noch nicht benütztem Blute zu, und vertheilte das ganze wieder auf 3 Portionen. Bei einem jeden Versuche gieng zuerst normales Blut; sobald sich die Herzaktion stabilisierte, liess ich nach zwei verschiedene Lösungen von Methylderivaten des Xanthins passieren.

Die reinen Praeparate dieser Substanzen (nicht die Doppelsalze) löste ich in Ringerscher flüssigkeit zur 0.2 % igen Konzentration und setzte von dieser Lösung die entsprechenden Mengen einem bestimmten Teile jenes Blutes zu, welches die Grundlage und den Ausgangspunkt des betreffenden Versuches bildete. Beim Theobromin musste dessen Lösung vorher erwärmt werden, weil seine Löslichkeit in der Kälte weniger als 0.2 % beträgt.

---

(1) O. LANGENDORFF : Pflügers Archiv 1895. Bd. 61. S. 393.

(2) A. KULIABKO : Pflügers Archiv. Bd. 90. S. 464 (1902).

(3) D i. nur dann, wenn dieses Blut noch keines der geprüften Praeparate enthielt.

Bei den ersten 7 Versuchen (Juli 1905) liess ich die Ernährungsflüssigkeit bei Zimmertemperatur (20-25°) durchströmen. Die Herztätigkeit, namentlich jene der Kammern, war sehr verlangsamt und betrug 20-40 Kontraktionen in der Minute. Nach Theophyllin und Theobromin (0.02 %) stieg die frequenz der Kammerkontraktionen auf die 2-3 fache Zahl und auch die Höhe der Kontraktionen nahm, insofern sie nicht maximal waren, offenkundig zu. Die Frequenz der Vorkammern blieb unverändert (80-100), die Mächtigkeit ihrer Kontraktionen nahm aber ebenfalls zu. Bei diesen Versuchen machte ich zweimal die Beobachtung, dass das Herz beim Durchfliessen der normalen Ernährungsflüssigkeit überhaupt nicht arbeitete und dass erst beim Durchfliessen der Theophyllin enthaltenden Flüssigkeit Kontraktionen auftraten, die je weiter desto mächtiger und frequenter wurden.

Vom Versuche N° VIII angefangen betrug die Temperatur der Ernährungsflüssigkeit 39°. Wider Erwarten blieb nun die exzitomotorische Wirkung der Methylderivate des Xanthins zumeist aus. Oft wurde das Experiment gestört durch das Flimmern des Myokards, durch unregelmässige Tätigkeit, und stets stellte sich, wenn nicht gleich im Beginne, so im Verlaufe des Versuchs eine bedeutende Akzeleration (über 200) ein.

Bei den Versuchen XXIV bis XXXII trat zwar die exzitomotorische Wirkung der Methylderivate des Xanthins nur wenig hervor, aber sie fehlte selten. Die Ursache dieses Umschwungs gegenüber den vorangehenden Versuchen erblicke ich einzig und allein in einer Abnahme der Reizwirkung des Calcium, was dadurch angerichtet wurde, dass das Calciumchlorid durch den oben angeführten Prozess in Calciumkarbonat verwandelt wurde.

Fast konstant und sehr prägnant wird die exzitomotorische Wirkung der genannten Praeparate bei den folgenden Versuchen, in denen ich das Calcium ganz und gar wegliess (oder wenigstens bedeutend verminderte) und die Temperatur der Ernährungsflüssigkeit auf 35° herabsetzte. Durch Ausschaltung des Calcium hörte dessen Reizwirkung auf und die Herzkontraktionen wurden beim Durchfliessen der reinen Ernährungsflüssigkeit hypomaximal, unvollständig. Infolge der niedrigen Temperatur sank auch die Frequenz der Kontraktionen auf die normale Zahl. Da erst konnte die exzitomotorische Wirkung der geprüften Praeparate in vollem Masse zur Geltung kommen.

Enthält die Ernährungsflüssigkeit Theophyllin, Theobromin oder Koffein, so steigt die Frequenz bei diesen Versuche etwa um ein Drittel und die Grösse der Kontraktion um den 2-3 fachen, manchmal sogar um den 4 fachen Wert. Diese Zunahme betraf gewöhnlich nicht nur die Grösse der einzelnen Kontraktionen, sondern auch ihre Stärke. Gemäss dem isometrischen Kardiogramm betrug die Zunahme der Kontraktions-

kraft nach Theophyllin manchmal mehr als das 6 fache; nach Theobromin war si etwas kleiner und nach Koffein noch kleiner.

Auf dem isotonischen Kardiogramm bemerken wir zwar nur insofern eine Zunahme, als die einzelnen Kontraktionen nicht schon früher vollständig, maximal waren. Infolgedessen war zwischen der Zunahme des Umfanges und der Kraft der Kontraktion kein bestimmtes Verhältnis. Manchmal nahm die Kraft der Kontraktionen mehr zu als das Volumen; manchmal wiederum das Volumen mehr als die Kraft.

Wenn die Frequenz schon bei Anwendung der normalen Ernährungsflüssigkeit hoch war (gegen 200), dann stieg sie bei Zusatz der Methylderivate noch höher (sogar auf 260) und die Kontraktionen nahmen sowohl an Umfang als auch an Kraft ab. Aber dieser Umschwung nach abwärts schliesst das Vorhandensein einer exzitomotorischen Wirkung keineswegs aus, weil für die Herztätigkeit überhaupt die Regel gilt, dass mit zunehmender Frequenz, wenn dieselbe abnorm hohe Zahlen erreicht, das Volumen, besonders aber die absolute Kontraktionskraft, sinkt.

Eine so grosse (relative) Zunahme der Frequenz, wie sie nach den Methylderivaten des Xanthins an ganzen Tieren BOCK, THOMAS, POUCHET u. a. beobachtet haben, habe ich am isolierten Herzen niemals gesehen; während bei diesen Autoren die normale d. i. ursprüngliche Pulsfrequenz um mehr als den doppelten Wert stieg, betrug bei unseren Versuchen die grösste Zunahme der frequenz höchstens die Hälfte, gewöhnlich aber nur ein Drittel, oft auch noch weniger. Nur dort, wo die frequenz schon im vorhinein stark unter die Norm gesunken war (Abkühlung des Praeparates, stark verdünntes Blut), trat bei Anwendung der Methylderivate des Xanthins eine relativ grössere Zunahme der Frequenz ein.

Ausser dieser im grossen und ganzen mässigen Zunahme der Frequenz beobachtete ich bei den Methylderivaten des Xanthins keine andere Beeinflussung des Herzrythmus. Wenn aber das Herz schon bei der Anwendung der Ernährungsflüssigkeit allein hie und da eine Arythmie aufwies, dann steigerte sich unter dem Einfluss dieser Praeparate die bestehende Arythmie und es stellten sich häufige Bi-, Quadri- und Oktogemini, Pulsus alternans, intermittens u. drgl. ein. Die Herzarbeit, nach der Höhe und Zahl der Kontraktionen gemessen, nahm dabei manchmal zu, oft aber nahm sie ab. Praeparate, bei denen die Beseitigung des Flimmerns erst nach langer Zeit gelang, verfielen bei Anwendung der Methyderivate oft wieder in dasselbe.

In dieser Hinsicht unterscheiden sich die Methylderivate des Xanthins wesentlich von der Digitalis, deren Hauptaufgabe im Gegenteil

in der Regulierung der Herzarbeit beruht (Huchard (1), Jürgensen (2) u. a. Kliniker).

Auch experimentelle Arbeiten der letzten Zeit lehren, dass Digitalis alle Arythmien, ja sogar Flimmern des isolierten Herzens, vollständig oder wenigstens teilweise beseitigt (Gottlieb und Magnus (3), Braun und Mager (4)). Die eigentliche exzitomotorische Wirkung der Digitalis auf das gesunde, regelmässig arbeitende Herz ist so gering, dass z. B. Williams (5) und Schmiedeberg (6) bei der Digitalis keine Zunahme der absoluten Kraft der einzelnen Kontraktionen fanden.

Im grossen und ganzen können wir sagen, dass die Methylderivate des Xanthins analog der Digitalis die Herztätigkeit hauptsächlich dort steigern, wo dieselbe vorher herabgesetzt war. Die Wirkungen beider ergänzen sich gegenseitig derart, dass die Digitalis die Herztätigkeit in der einzelnen Faser und im ganzen Myokard reguliert, während die Methylderivate des Xanthins die Produktion der kinetischen Energie in jeder einzelnen Faser für sich erhöhen ohne Rücksicht auf deren Anordnung im ganzen Myokard. Aus diesem Grunde bewährt sich in der klinischen Praxis die Kombination der beiden Medikamente weil in den meisten Fällen Unregelmässigkeit und Schwäche der Herzaktion gleichzeitig vorkommen. Allerdings gibt es auch Fälle, in denen die Herzaktion nur nach einer der beiden Richtungen gestört ist; in solchen Fällen genügt aber auch nur das eine der beiden Medikamente.

Die Zunahme des Pulsvolumens nach den Methylderivaten beruht nach meinen Versuchen einzig und allein auf einer Zunahme der Kontraktionskraft, weil das Volumen nur dann steigt, wenn die Kontraktionen früher, bei Durchströmung der reinen Ernährungsflüssigkeit, unvollständig waren. Niemals konnte ich beobachten, dass eine Vertiefung der Diastole die Zunahme des Pulsvolumens unterstützt hätte, wie dies von Gottlieb und Magnus bei der Digitalis beschrieben wird.

Eine Neigung des Myokards zur ständigen Verkürzung und eine daraus resultierende Verkleinerung des Pulsvolumens, wie dies Schmiedeberg bei den Methylderivaten des Xanthins voraussetzt, habe ich bei meinen Versuchen nicht beobachtet, obwohl ich die genannten Praeparate sogar in einer 0.03 % igen Konzentration verwendete. Bei einer

---

(1) H. Huchard : *Traité clinique des maladies du cœur et de l'aorte* (3 édit.). T. III, p. 759 (1904).

(2) Th. Jürgensen : Nothnagels Path. u. Ther. 1903. Bd. XV. T. 1. S. 200.

(3) Gottlieb u. Magnus : Archiv f. exper. Path. u. Pharm. 1904. Bd. 51. S. 30.

(4) Braun u. Mager : Sitzungsberichte d. kais. Akad. d. Wissenschaften in Wien. Mathem. naturwiss. Klasse, 1899. Bd. CVIII. Abt. III. S. 471.

(5) Ibidem.

(6) Ibidem.

solchen Konzentration des Koffeins, Theobromins oder Theophyllins verfällt die Skelettmuskulatur in einen Zustand totaler Todtenstarre, während unser isoliertes Herz bei Anwendung dieses oder jenes Praeparates nur eine grössere oder kleinere Depression der Herzaktion zeigte, während im übrigen das Myokard weich und das Volumen der rechten Kammer und Vorkammer unverändert blieb.

Meine graphische Vorrichtung ist nicht geeignet, die Veränderungen des Herzvolumens, insoweit sie sich allmählig einstellen, zu veranschaulichen (1), und daher sah ich mich zu folgender Manipulation veranlasst. Ich hemmte plötzlich für eine kurze Zeit den Strom der Ernährungsflüssigkeit und erhob bis zu einer bestimmten Höhe das Abflussrohr, sodass das rechte Herz, wenn es stehen blieb, unter einem bestimmten Drucke gefüllt war. Durch Entleerung des Inhalts in ein graduiertes Gefäss bestimmte ich den Rauminhalt des rechten Herzens. Dieselbe Manipulation wiederholte ich später, wenn die durchströmende Ernährungsflussigkeit eines der drei zu prüfenden Praeparate enthielt. Wenn ich dann die beiden Zahlen verglich, ergab sich eine geringfügige Schwankung bald in der einen, bald in der entgegengesetzten Richtung, und daher nehme ich an, dass eine Verkürzung des Myokards nicht stattfand. Die Unterbrechung des Kreilaufs durch das Herz hat auf die Argumentation keinen Einfluss, da sie die beginnende Starre resp. die vorangehende Verkürzung des Myokards noch begünstigen müsste.

Dass das isolierte Herz der erstarrenden resp. koagulierenden Wirkung der Methylderivate des Xanthins so widersteht, ist eine längst bekannte Erfahrung. KUNKEL (2) u. a. führen an, dass bei der allgemeinen Vergiftung mit Koffein oder Theobromin die Skelettmuskulatur plötzlich ganz erstarrt, während das Herz noch in vollkommener Weise arbeitet. In analoger Weise gibt auch ALBANESE (3) von den Monomethyloxanthinen an, dass der Frosch nach 0.01 gr. binnen weniger Stunden tot und starr ist, während sein Herz noch kräftig arbeitet. Nur nach enormen Gaben von Koffein und Theobromin schreitet nach KUNKEL die Starre auch auf den Herzmuskel fort.

Ferner erwähnen weder HEDBOM noch LOEB oder BECO und PLUMIER, dass sie eine Verkürzung des Myokards nach den Methylderivaten des Xanthins beobachtet hätten und daher glaube ich, dass die Behauptung SCHMIEDEBERGS, mag sie sich auch auf einige experimentelle Arbeiten stützen, nicht der Wirklichkeit entspricht. BOCK, THOMAS und POUCHET

(1) Wohl aber die plötzlichen, binnen weniger Sekunden sich abspielenden Veränderungen.

(2) A. I. KUNKEL : Handb. d. Toxikologie. 1901. H. II. S. 579.

(3) M. ALBANESE : Archiv f. exper. Path. u. Pharm. 1900. Bd. 43. S. 305.

geben zwar in einer bestimmten Phase der Allgemeinvergiftung mit den Methylderivaten des Xanthins eine Abnahme des Pulsvolumens und zugleich eine Verkleinerung des Herzvolumens an, ausserdem aber beobachteten sie in derselben Phase eine abnorm hohe Akzeleration, die offenbar ausserhalb des Muskels ihren Ursprung hatte. Es ist bekannt, dass bei hoher Frequenz die Diastolen stets unvollständig sind, wodurch nicht bloss das Volumen der Einzelkontraktion, sondern auch das Volumen des ganzen Herzens abnimmt.

Wie bereits erwähnt, beobachteten wir nach den Methylderivaten des Xanthins manchmal eine Frequenz, die über 200 betrug. Ausser einer Abnahme des Pulsvolumens trat allerdings auch hier gemäss dem eben erwähnten Gesetz eine Verkleinerung des Herzens ein. Dass es sich hier aber nicht um den Beginn der Koagulationswirkung der Methylderivate handelte, ist aus dem Umstande zu ersehen, dass eine vollständige, tiefe Diastole eintrat, sobald eine Systole zufällig ausblieb. (1)

Nach unseren Versuchen ist der erste Grad der Koagulationswirkung der Methylderivate des Xanthins nicht eine Verkürzung des Myokards, sondern im Gegenteil eine Depression der Herztätigkeit, die sich teils in einer mässigen Frequenzverminderung, teils in einer auffallenden Abnahme der Kontraktionskraft äusserte. Diese Abnahme betraf vorwiegend die Kammerkontraktionen, die zugleich einen gewissen tonischen Charakter annahmen. Aber nicht einmal bei Anwendung einer 0.03 %igen Konzentration trat die Depression gleich im Beginne der Wirkung der betreffenden Praeparate auf, sondern es kam stets zuerst die reine exzitomotorische Wirkung, die sich in einer Zunahme der Kontraktionskraft und der Frequenz äusserte, zur Geltung, während die depressive Wirkung auf diese beiden Werte erst später nach längerer oder kürzerer Zeit eintrat.

Dass es sich bei einer derartigen Depression der Herzstätigkeit nicht um eine Verkürzung des Myokards gehandelt hat, lässt sich mit Bestimmtheit aus folgenden Umständen erschliessen. Zunächst kam es häufig vor, dass in der Reihe der kleinen Kontraktionen eine oder mehrere grosse auftraten, die annährend jenes Pulsvolumen erreichten, das vor der Depression bestanden hatte. Zweitens liess sich die Depression leicht beseitigen, wenn man die Ernährungsflüssigkeit gegen eine andere Flüssigkeit austauschte, die entweder eine schwächere Konzentration desselben Praeparates oder ein anderes Praeparat mit schwächerer depressiver Wirkung enthielt. Nach dem Austausch der Flüssigkeit

---

(1) Auf dem Kardiogramm sank die Kurve zur ursprünglichen Tiefe herab, um durch die folgende mächtige Systole wiederum die Höhe der übrigen Pulsationen zu erreichen. (Vergl. die Anmerkung auf S. 517).

schwand zwar die Depression nur allmählig (binnen 1-3 Minuten), aber sie verschwand vollkommen, sodass das Herz wiederum zu einem neuen Versuche vollkommen geeignet war.

Einmal sah ich eine wirkliche Starre des Myokards u. zw. beim Durchströmen einer 0.03 %igen Koffeinlösung bei der zufällig hohen Temperatur von 42°. Es handelte sich hier also nicht um eine reine Koffeinwirkung, doch können wir diesen Fall trotzdem für die Frage der Zusammenziehung des Myokards verwerten. Es sank nämlich zuerst das Pulsvolumen und erst, als dasselbe nahe an Null war, zeigte sich auch eine Verkürzung des Myokards d. i. beginnende Starre. Der höchste Grad derselben trat aber erst nach dem Stillstand des Herzens ein, wo binnen 15 Minuten das Myokard vollständig weiss wurde und das vorhandene Haemoglobin sich braun färbte.

Bei Anwendung der Medizinaldosen der Methylderivate des Xanthins kann es nicht einmal zum ersten Grade der Koagulationswirkung i. e. zur Depression muskulären Ursprungs kommen, weil ihre Konzentration im Blute des Kranken nach einer Einzelgabe etwa 100 mal schwächer sein muss als jene, die bei unseren Experimenten zur Anwendung kam.

Schmiedeberg beruft sich darauf, das Zenetz beim Menschen nach Koffein eine Verkleinerung des Herzens konstatiert habe. Ja, wir selbst haben in der Klinik des Herrn Prof. Maixner oft einen auffallenden Rückgang der Herzdilatation bei Kardiopathen nach Theobromin, besonders aber nach Theophyllin, gesehen (1). Es könnte daher scheinen, dass die verkürzende Wirkung der Methylderivate des Xanthins wenigstens beim pathologisch erschlafften (degenerierten) Myokard zur Geltung komme, wie dies bereits Schmiedeberg vorausgesetzt hat. Trotzdem glaube ich aber, dass wir nicht einmal unter dieser Form jene verkürzende Wirkung der Methylderivate des Xanthins (als erste Stufe der Muskelstarre) vor uns haben, sondern bin auf Grund unserer Versuche der Ansicht, dass es sich nur um eine Restitution des normalen Tonus (Spannung) des Muskels handelt, durch dessen Verlust eben die Dilatation des Myokards entstanden ist. Es ist ganz natürlich, dass mit der Zunahme der Kontraktionskraft auch der Muskeltonus steigt.

Eine ähnliche Wirkung auf die Dilatation des Herzens hat ja auch die Digitalis, obwohl eine ihrer Wirkungen in einer Vertiefung der Diastole beruht, sodass entsprechend dieser Wirkung die Dilatation des Myokards eher zunehmen sollte. Die Regulierung der Herztätigkeit und die dadurch bedingte Zunahme der Kontraktionskraft, sowie auch die Spannung des Myokards paralysieren während der Systole und Pause nicht nur die vorangehende diastolische Wirkung, sondern wirken sogar

(1) V. Plavec : Die Heilkunde, 1906. Jg. X. H. 6.

im entgegengesetzten Sinne auf das erschlaffte Myokard. Warum sollten wir daher nicht eine einfach tonisierende Wirkung auf das Myokard auch bei den Methylderivaten des Xanthins annehmen, wenn bei diesen die Steigerung der Kontraktionskraft noch mehr ausgesprochen ist als bei der Digitalis?

Es ist nun die Frage, in welchem Verhältniss die exzitomotorische Wirkung der Methylderivate des Xanthins zu ihrer Koagulationswirkung steht. SCHMIEDEBERG und mit ihm vielleicht alle Autoren, welche sich mit der Muskelwirkung der genannten Praeparate befasst haben, nehmen an, dass die Wirkung des Xanthins und seiner Methylderivate auf die Muskelsubstanz eine einheitliche sei d. h. dass die exzitomotorische und depressive resp. koagulierende Wirkung nur verschiedene Graden ein und derselben Wirkung seien. Es erscheint natürlich, dass der Paralyse eine Exzitation vorangehe.

Unsere Versuche aber lehren, dass die exzitomotorische und depressive (d. i. also koagulierende) Wirkung von einander unabhängig sind. Wenn wir alle Methylderivate des Xanthins mit einander vergleichen, so finden wir, dass ihre exzitomotorische und koagulierende Wirkung ungleich sind und dass sich zwischen beiden Wirkungen kein bestimmtes Verhältnis konstatieren lässt.

Nach den vergleichenden Versuchen von FILEHNE (1) ruft das Theobromin die Muskelstarre mit viel grösserer Kraft hervor als das Koffein. Nach DRESER (2) kommt das Theophyllin in dieser Beziehung dem Koffein gleich. Eine stärkere Wirkung als alle diese Praeparate dürften die Monomethylderivate des Xanthins haben, da ALBANESE (3) die Beobachtung machte, dass der Muskel bei Anwendung einer 0.05 %igen Lösung des Heteroxanthins und des 3-Methylxanthins augenblicklich in den Zustand der Totenstarre übergeht. Die intensivste Muskelstarre ruft aber das Xanthin selbst hervor. Nach KUNKEL (4) verursacht das Xanthin, wenn es einem Frosch injiziert wird, nicht bloss eine Starre der Skelettmuskulatur, sondern auch des Herzmuskels, was bei den Methylderivaten kaum zu erzielen ist.

Mit dieser Stufenleiter der Koagulationswirkung stimmen — bis auf das Theophyllin — unsere Erfahrungen bezüglich der depressiven Wirkung der genannten Praeparate auf die Herzaktion überein. Analog der Koagulationswirkung steigt auch die depressive Wirkung, als deren erster Grad, vom Koffein (Trimethylxanthin) zum reinen Xanthin. Eine

(1) W. v. SCHROEDER : Archiv f. exp. Pathol. u. Pharm. 1868, Bd. 24, S. 85.
(2) H. DRESER : Pflügers Archiv. 1904, Bd. 102. S. 1.
(3) M. ALBANESE : Archiv f. exper. Path. u. Pharm. 1900. Bd. 43. S. 305.
(4) A. I. KUNKEL : Handb. d. Toxikologie. 1901. H. II. S. 579.

Ausnahme machte das Theophyllin, bei dem die depressive Wirkung wider Erwarten am schwächsten war; erst bei einer mehrere Minuten dauerenden Durchströmung der betreffenden Lösung kam dieselbe kaum merklich zur Geltung. Beim Koffein war sie schon bei derselben Konzentration ganz deutlich und trat schon nach einer eine Minute dauernden Durchströmung der betreffenden flüssigkeit auf (siehe Kardiogramm 1 und 2). Am deutlichen war sie unter unser drei Praeparate beim Theobromin ausgeprägt, wo sie schon bei einer 0.02 %igen Konzentration und nach 2 Minuten Durchströmungszeit deutlich vorhanden war.

Zum vollständigen Vergleiche prüfte ich unter sonst gleichen Bedingungen auch die Wirkung des reinen Xanthins. Ich verwendete absichtlich relativ schwache Lösungen, 0.007-0.015 %ige, aber dennoch war auch hier die depressive Wirkung auf die Herzaktion eine ganz offenkundige, ein Umstand, der mit seinem maximalen Einfluss auf die Muskelstarre übereinstimmt. Aber es zeigte sich, dass auch das Xanthins der exzitomotorischen Wirkung nicht vollständig entbehrt, die sich in einer verhältnismässig unbedeutenden Zunahme der Kontraktionskraft (isotonisch und isometrisch) und bei einer Konzentration von 0.007 % auch der Frequenz äusserte. Bei einer Konzentration von 0.01-0.015 % blieb die Frequenz entweder unverändert oder sie nahm sogar ein wenig ab. Selbst bei der schwächsten Konzentration des Xanthins trat nach zwei Minuten eine Depression der Herzaktion auf, die in einer Verkleinerung der Kontraktionsgrösse (des Pulsvolumens) beruhte. Bei stärkeren Konzentrationen zeigte sich die Depression schon nach einigen Sekunden und äusserte sich ausser in einer Abnahme der Kontraktionsgrösse auch in einer Pulsarythmie mit häufigen Intermissionen, wodurch zeitweise eine bedeutende Verlangsamung der Frequenz entstand.

Da das Theophyllin in seiner depressiven Wirkung so auffalend von der Koagulationswirkung, wie sie aus dem heutigen Stande der Lehre von den Methylderivaten des Xanthins hervorgeht, abwich, führte ich mit denselben einige informierende Versuche bezüglich der Muskelstarre durch. Bei der Muskulatur des Frosches (*Rana temporaria*) fand ich, dass nach der Injektion einer 0.05 % igen Lösung des Theophyllins in die Gefässe der hinteren Extremitäten eine Koagulation erst nach einigen Minuten auftrat, während sie sich nach einer ebenso starken Koffeinlösung schon nach einigen Sekunden einstellte. Bei einer Konzentration des Theophyllins von 1 : 4000 konnte ich die Starre überhaupt nicht hervorrufen, obzwar Dreser diese Konzentration als Minimum ebenso für das Theophyllin wie für das Koffein angibt.

Ich muss also annehmen, dass das Theophyllin aus der Reihe heraustritt, die sich sonst, bezüglich der Muskelstarre, vom Koffein über das Di- und Monomethylxanthin zum eigentlichen Xanthin aufstellen liesse.

Wenn wir nun mit der ursprünglichen oder von uns korrigierten Stufenleiter der erstarrenden Wirkung die Stufenleiter der exzitomotorischen Wirkung vergleichen, da zeigt es sich, dass die beiden Wirkungen zu einander weder in einem direkten noch in einem umgekehrt proportionalen Verhältnisse stehen.

Bei der Durchsicht unserer Protokolle und Kardiogramme ergibt sich bezüglich des quantitativen Unterschiedes der exzitomotorischen Wirkung der einzelnen Praeparate folgende Bilanz : die stärkste exzitomotorische Wirkung besass das Theophyllin, nach ihm kam das Theobromin und zuletzt das Koffein. Auf Grund eines Vergleiches einer grossen Anzahl von Experimenten möchte ich sagen, dass das Koffein in günstigen Fällen die Herzaktion im Verhältnisse 1 : 1.5, das Theobromin im Verhältnisse 1 : 3 und das Theophyllin im Verhältnisse 1 : 5 steigert (1).

Das Theophyllin besitzt demnach die grösste exzitomotorische und kleinste depressive resp. koagulierende Wirkung, während das Xanthin umgekehrt die kleinste exzitomotorische und grösste koagulierende Wirkung besitzt; bei diesen beiden Praeparaten stehen also beide Wirkungen zu einander in einem umgekehrten Verhältnis, während die anderen Praeparate sich diesem Verhältnisse entziehen. Das Theobromin z. B. hat eine starke exzitomotorische und koagulierende (2) Wirkung, während das Koffein diese beiden Wirkungen im Verhältnis zum Theobromin in viel schwächerem Grade besitzt.

Meiner Ansicht nach wird uns das Verhältnis zwischen der exzitomotorischen und koagulierenden Wirkung begreiflicher, wenn wir nicht so sehr die Zahl der Methylgruppen (KUNKEL), als vielmehr die Stellung der einzelnen Gruppen im Xanthinkern beachten. Das Theophyilin z. B. ist ebenso ein Dimethylxanthin wie das Theobromin, und doch ist die Wirkung beider quantitativ so verschieden. Obwohl das Theophyllin eine noch stärkere exzitomotorische Wirkung besitzt als das Theobromin, hat es wiederum eine unverhältnismässig schwächere Koagulationswirkung als dieses.

Die fundamentalen Eigenschaften der einzelnen Methylgruppen sehen wir am besten an den Monomethylxanthinen. ALBANESE (3) prüfte die Wirkungen des 7- und 3-Methylxanthins und fand, dass der M. gastrocnemius eines mit 3-Methylxanthins vergifteten Frosches eine Zunahme der mechanischen Leistung wie nach Koffein zeigte. Dagegen vermisste er diese exzitomotorische Wirkung beim Heteroxanthin

(1) Annähernd dieselben Proportionen weisen die beiden beigelegten Kardiogramme auf.

(2) Diese beginnt allerdings erst bei einer bestimmten Konzentration.

(3) M. ALBANESE : Archiv f. exper. Path. u. Pharm. 1900. Bd. 43. S. 305.

(7-Methylxanthin) vollständig, obwohl dieses Praeparat eine ebenso starke Muskelstarre hervorrief wie das 3-Methylxanthin.

Betrachten wir nun die innere struktur des Theophyllins und des Theobromins, so sehen wir, dass das Theophyllin ein 1-, 3-Dimethylxanthin, das Theobromin ein 3-, 7-Dimethylxanthin sei. Das Theophyllin entbehrt demnach der 7-Methylgruppe und aus diesem Grunde (resp. mit Rücksicht auf die Eigenschaften des Heteroxanthins) dürfte seine Koagulationswirkung schwach und exzitomotorische Wirkung relativ stark sein.

Dieser Erklärung steht einzig und allein der Umstand im Wege, dass wir die Muskelwirkung des 1-Methylxanthins nicht kennen. Wenn nun diese Gruppe die Koagulationswirkung unterdrückt, dann liesse sich an der Richtigkeit der Erklärung der Muskelwirkung aus der Lagerung der Methylgruppen nicht zweifeln. Dann würden wir leicht begreifen, warum das Theophyllin eine so schwache Koagulationswirkung und warum das Koffein, das ein 1-, 3-, 7-Methylxanthin ist, eine dem Theophyllin und Theobromin gegenüber relativ so schwache exzitomotorische (= Gruppe 7) und auch koagulierende (= Gruppe 1) Wirkung besitzt.

Bei genauerer Analyse der Herzwirkung entsteht ferner die Frage, in welchem chemisch-physikalischen Prozess die exzitomotorische Wirkung der Methylderivate des Xanthins beruhen dürfte.

Da müssen wir zunächst beachten, dass die chemische Affinität zwischen der Muskelsubstanz und den Methylderivaten des Xanthins so intensiv ist, dass bei einer direkten Berührung derselben ein grosser Teil der Derivate sofort gebunden wird. Daher ist bei einer Injektion in die Schenkelmuskulatur des Frosches zur Hervorrufung der allgemeinen Intoxikationserscheinungen eine viel grössere Dose notwendig als bei einer Injektion in eine Vene oder in einen Lymphsack (Pouchet). Aus diesen Gründen ist es begreiflich, warum der grössere Teil der genannten Praeparate im Körper zerlegt wird und der kleinere Teil unverändert durch den Harn ausgeschieden wird.

Durch ein genaues Studium des Stoffwechsels wurde konstatiert, das die CO_2-Produktion sowie die N-Ausscheidung nach Koffein zunimmt (Hoppe-Seyler, E. Smith, Voit u. a. (1). Da auch die Rektaltemperatur wirklich steigt (selbst um 1.5°) und das Körpergewicht hungernder Tiere bei gleichzeitiger Koffeinfütterung rascher abnimmt (1), kann man mit Sicherheit annehmen, dass die Verbrennung der Vorräte im Organismus unter der Einwirkung des Koffeins rascher vor sich geht. Wenn wir uns überdies die intensive Wirkung dieser Praeparate auf die Muskelsubstanz sowie die nachgewiesene Zunahme der Muskelenergie infolge dieser Wirkung vor Augen halten, dann dürfen wir wohl mit Recht behaupten,

(1) Pouchet : Leçons de Pharmacodynamie. 1904. T. IV. S. 1054. u. f.

dass das Koffein nicht bloss im Körper überhaupt, sondern speziell im Muskel die Oxydation steigert. Zu dieser Annahme sind wir umso mehr berechtigt, als die Physiologie lehrt, dass die Muskulatur der Hauptsitz der Oxydation und Wärmeproduktion im Körper ist.

Auf diese Weise ist es leicht begreiflich, warum die Methylderivate des Xanthins auf das kranke Myokard viel intensiver wirken als auf das gesunde. Im degenerierten Muskel ist die Oxydation vermindert, sei es infolge einer Störung der innerchemischen Prozesse (Assimilation und Dissimilation)(1), oder infolge Mangels an Materie (einerseits des Sauerstoffs, anderseits der Verbrennungsvorräte). Die Methylderivate des Xanthins steigern die innere chemische Disposition zur Verbrennung, mag dies auch auf Kosten des letzten Vorrates an potentieller Energie geschehen. Dadurch steigt die mechanische Energie des Myokards, die Blutzirkulation des Körpers wird beschleunigt, wodurch sich wiederum die Ernährung sämtlicher Organe, daher auch des Herzens bessert und die Kompensation des Vitium, die anfangs nur eine künstliche war, wird, bevor noch die letzten Nahrungsvorrät des Myokards erschöpft sind, zu einer dauernden, selbstätigen.

Es muss aber hervorgehoben werden, dass die Oxydation, welche die Methylderivate des Xanthins einleiten, keine sparsame ist, da sich der Harnstoff, das vollkommenste Produkt der Sauerstoffverbrennung, an der Zunahme des ausgeschiedenen Stickstoffs nicht beteiligt(2). Daher steigern das Koffein und die mit ihm verwandten Praeparate die Oxydation nur hinsichtlich der Extensität (Menge) und nicht hinsichtlich der Intensität (Vollständigkeit). Umso mehr ist es also notwendig, dass die Assimilation des Muskels nicht zu sehr gestört sei, wenn die Verabreichung der erwähnten Praeparate von Erfolg begleitet sein soll. Daher dürfen wir in moribunden Fällen die Dosis nicht übertreiben.

Auch aus unseren Versuchen geht hervor, dass die Methylderivate des Xanthins die Herzaktion durch eine erhöhte Oxydation steigern, namentlich wenn dieselbe vorher herabgesetzt war. Wurde das Herz von einem wenig verdünnten i. e. an Oxyhaemoglobin relativ reichem Blute durchströmt, dann war die Herzaktion schon bei Anwendung normalen Blutes eine vollkommene (sowohl in Bezug auf die Vollständigkeit der Kontraktion, als auch in Bezug auf ihre Stärke und Frequenz). Führte man Blut ein, das Methylderivate enthielt, blieb die Herzaktion fast unverändert, oft aber stieg nur die Frequenz, was bei grosser Zahl die Grösse

(1) Dass die Dissimilation im Myokard für sich allein gestört sein kann, lässt sich aus dem Umstande erschliessen, dass wir im degenerierten Muskel auch dann viel fett vorfinden, wenn es sich zu Lebzeiten nicht um einen Sauerstoffmangel handelte.

(2) POUCHET : Leçons de pharmacodynamie. 1904. T. IV. S. 1054 u. folg.

und Stärke der Kontraktion nur herabsetzte. Wenn ich aber bei dem darauffolgenden Versuche mit demselben isolierten Herzen das Blut stark verdünnte resp. die Menge des Oxohaemoglobins relativ verminderte, sanken regelmässig die Kammerkontraktionen bis zu unbedeutenden Zuckungen herab, die erst auf die zweite oder gar erst auf die zehnte Vorhofskontraktion folgten. Wenn nun jene Flüssigkeit durchzuströmen begann, welche Koffein, Theobromin oder Theophyllin enthielt, entwickelten sich binnen 1/2-1 Minute volle reguläre Kontraktionen mit annähernd normaler Frequenz.

Dass bei diesen Differenzen einzig und allein die Menge des Oxohaemoglobins resp. des Sauerstoffs und dadurch auch die Mächtigkeit der Oxydation entschied, lässt sich aus jenen Versuchen erschliessen, bei denen das Blut zwar nur wenig verdünnt, dafür aber seine Temperatur auf Zimmertemperatur erniedrigt war. Die niedrige Temperatur hemmte die Oxydation und dadurch auch die Herzaktion und daher konnten die Methylderivate ihre exzitomotorische Wirksamkeit, auch bei höherem gehalt an Oxyhaemoglobin, besser zur Geltung bringen.

Bei der Beurteilung der exzitomotorischen Wirkung der Methylderivate des Xanthins dürfen wir nicht vergessen, dass wir die mechanische Funktion des Myokards auf eine zweifache Art steigern können : einmal durch direkte Einwirkung auf die Muskelsubstanz, das anderemal indirekt durch Vasodilatation resp. durch Steigerung des Durchflusses der Ernährungsflüssigkeit.

Zuerst hat LANGENDORFF (1) beobachtet, dass die Energie des Herzens mit dem Strome der Ernährungsflüssigkeit wächst. SCHIRRMACHER hat später gezeigt, dass die Höhe der Systole annähernd proportional dem Drucke, unter welchem die Ernährungsflüssigkeit in das Herz getrieben wird, zunimmt.

Andererseits ist es bekannt, dass HEDBOM und LOEB (bis zu einem gewissen Grade auch BRAUN (2)) eine vaso-dilatatorische Wirkung des Koffeins und Theobromins am isolierte Herzen tatsächlich beobachtet haben. BECO und PLUMIER beschreiben uberdies eine vasodilatatorische Wirkung nicht bloss beim Koffein und Theobromin sondern auch beim Theophyllin.

Es erübrigt uns also unter diesen Umständen nur die Entscheidung, inwiefern die Steigerung der Herzaktion, die wir bei unseren Experi-

(1) O. LANGENDORFF : Pflügers Archiv. 1897. Bd. 66. S. 385.

(2) Dieser Autor machte nur die Beobachtung, dass die vasokonstriktorische Wirkung der Digitalis am isolierten Herzen bei gleichzeitigen Zusatz von Koffein eine geringere ist. (Zeitschrift f. experiment. Pathologie u. Therapie. 1905. Bd. 1. S. 360).

menten gesehen haben, der direkten exzitomotorischen Wirksamkeit und inwiefern der Steigerung des Durchflusses der Ernährungsflüssigkeit zuzuschreiben ist.

Wie aus der Beschreibung unserer Anordnung hervorgeht, konnten wir die Veränderungen des Durchflusses der Ernährungsflüssigkeit bequem und sicher bestimmen, sodass wir die obige Frage dahin beantworten können, dass das Koffein, Theobromin und Theophyllin die Herzaktion entweder direkt (durch Einwirkung auf die Muskelsubstanz) oder *auch* indirekt (durch Einwirkung auf die Vasodilatation) steigern, was von der Tiergattung abhängt, von der das Herz zum Experimente verwendet wurde.

Solange ich nur Hundeherzen verwendete, habe ich eine Vasodilatation nie beobachtet. HEDBOM, LOEB und BRAUN arbeiteten bloss mit Katzen- und Kaninchenherzen und kannten daher diese Ausnahme nicht.

BECO und PLUMIER beschreiben zwar eine Vasodilatation nach den Methylderivaten des Xanthins beim Hunde an der isolierten Niere und an der isolierten Extremität, geben aber selbst zu, dass die Vasodilatation an der Extremität (deren Gefässen die Gefässe des Myokards analog sein dürften) im grossen und ganzen unbedeutend ist und nach wenigen Sekunden verschwindet, obwohl sie viel stärkere Lösungen (1) benutzten als ich. Ich glaube, dass auch die von ihnen beobachtete Vasodilatation in der Niere des Hundes (die ich übrigens auf Grund meiner eigenen Separatversuche bestätigen kann) quantitativ der dilatativen Reaktion in demselben Organ beim Kaninchen weit nachsteht, denn es ist bekannt, dass der (ganze) Hund auf die Methylderivate des Xanthins diuretisch gar nicht (v. SCHROEDER (2), L. SCHWARZ (3), DRESER u. A.), das Kaninchen dagegen sehr stark reagiert.

Bei unseren Versuchen am isolierten Hundherzen änderte sich der Strom der Ernährungsflüssigkeit während des Durchflusses der Methylderivate entweder überhaupt nicht oder unz so wenig, als infolge der allzusehr veränderten Herztätigkeit notwendig war. LANGENDORFF und LOEB haben darauf hingewiesen, dass mit steigender Herzaktion (besonders mit steigender frequenz) auch der Durchfluss zunimmt und dass derselbe mit abnehmender Herzaktion sinkt; die Kontraktionen des Myokards unterstützen nämlich die Entleerung der eigentlichen Kapillaren und Venen. In Übereinstimmung mit diesen Ausführungen beobachteten auch wir beim Hunde eine Zunahme des Durchflusses der

(1) Während der künstlichen Durchströmung injizierten sie auf einmal 0.02 Theocin (resp. Koffein oder Agurin) in 1 °/₀ Konzentration.

(2) W. v. SCHROEDER: Archiv f. exper. Pathol. u. Pharmak. 1888. Bd. 24. S. 85.

(3) L. SCHWARZ: Archiv f. exp. Pathol. u. Pharm. 1900. Bd. 43. p. 1.

Ernährungsflüssigkeit um 10-15 % in der Zeiteinheit, wenn die Frequenz von dem ursprünglichen kleinen Werte nach Einleitung der Methylderivate fast auf den doppelten und bei nicht vorerwärmten Blute eventuell auf den dreifachen Wert stieg. In der Mehrzahl der fälle aber blieb der Durchfluss beim Hunde unverändert. Wir können daher mit vollem Rechte eine direkte exzitomotorische Einwirkung der Methylderivate des Xanthins auf die Muskelsubstanz des Myokards annehmen.

Anders waren die Verhältnisse bei Katzen und Kaninchen. Hier entstand beim Durchströmen durch das isolierte Herz eine sichere Dilatation der Gefässe mit einer entsprechenden Steigerung des Durchflusses, wenn eine Flüssigkeit durchzuströmen begann, die irgend eines unserer Methylderivate enthielt.

Der Grad der Vasodilatation richtete sich einerseits nach dem verwendeten Praeparate, andererseits nach der Tiergattung. Das Kaninchenherz äusserte diesbezüglich eine grössere Empfindlichkeit als das Katzenherz. Von der Praeparaten verursachte wiederum das Theophyllin die grösste Dilatation; bei einer Konzentration von 0.03 % steigerte es den Blutdurchfluss durch das Herz beim Kaninchen manchmal um das Dreifache, bei der Katze oft um das Doppelte. Bei einer Konzentration von 0.01 % war die vasodilatatorische Wirkung des Theophyllins nur wenig kleiner. Nach dem Theophyllin kommt das Koffein, das den Durchfluss ebenfalls annähernd auf den doppelten Wert steigerte. Die verhaltnismässig kleinste Vasodilatation verursachte das Theobromin, aber auch bei diesem betrug die Steigerung des Durchflusses gewöhnlich zwei Drittel des ursprünglichen Wertes.

Diese vasodilatorischen Wirkungen beziehen sich allerdings nur auf das isolierte Herz und lassen sich nicht so ohneweiters auf das ganze Individuum übertragen. Schon SCHROEDER hat nachgewiezen, dass die diuretische Wirkung des Koffeins (d. i. also die vasodilatatorische Wirkung in den Nieren) de norma durch eine gleichzeitige zentrale Reizung der Vasokonstriktoren überkompensiert werde und erst durch die Unterdrückung dieser zentralen Wirkung (mittels Chloralhydrat) zur Geltung komme. Zugleich beobachtete er aber, dass die diuretische Wirkung des Theobromins auch ohne Chloralhydrat auftritt resp. dass bei demselben die zentrale vasokonstriktorische Wirkung entfällt.

Tatsächlich lehrt auch die klinische Erfahrung, dass bei der Therapie der *Angina pectoris*, bei der gerade die Vasodilatation im Myokard vom besten Erfolge begleitet sein kann, sich nur das Theobromin und Theophyllin und nicht das Koffein bewährt. Ja, nach unseren früheren Beobachtungen überragt das Theophyllin im Koupieren des Anfalls von Angina pectoris beiweitem das Theobromin, was mit der nummehr konstatierten verhältnismässigen vasodilatatorischen Einwirkung dieser

beiden Praeparate übereinstimmt. Wir werden daher in einem jeden Anfall von Angina pectoris, wenn nicht irgendwelche besondere Gründe (z. B. eine individuelle Idiosynkrasie) dagegen sprechen, stets das Theophyllin anwenden.

Da die vasodilatatorische Herzwirkung nach dem Individuum schwankt, sollten wir uns eigentlich erst die Frage vorlegen, ob der Mensch überhaupt zu jenen Individuen gehört, die auf die Methylderivate des Xanthins vasodilatatorisch reagieren. Ein direkter Beweis ist hier allerdings unmöglich zu führen, aber wir können unsere Schlüsse aus zweierlei Umständen ziehen : erstens aus der eben erwähnten therapeutischen Wirksamkeit bei Angina pectoris und zweitens aus der diuretischen Reaktion des Menschen, die mit der vasodilatatorischen Wirkung so eng zusammenhängt.

Bei hydropischen Kardiopathen, besonders bei Arteriosklerotikern tritt in der Regel eine starke, manchmal sogar eine kolossale Diurese resp. Vasodilatation in den Nieren ein. Da nun die Angina pectoris auf Arteriosklerose (des Myokards) beruht, also auf einer Krankheit, die auf die Methylderivate des Xanthins am besten diuretisch reagiert, ist es wahrscheinlich, das in derartigen Fällen auch die Gefässe des Myokards durch Dilatation reagieren.

Offenbar muss die Dilatation der Herzgefässe einen viel grösseren Einfluss auf die Ernährung und dadurch auch auf die Arbeit des Herzens dort ausüben, wo der Blutstrom im Herzen vorher, sei es aus rein lokalen Gründen (Sklerose der Gefässe), oder infolge Dekompensation des Herzens und gestörter Zirkulation überhaupt, verlangsamt war.

Ein ungenügender Blutstrom schädigt nicht bloss das Myokard in seiner Ernährung, sondern hemmt auch infolge Sauerstoffmangel die Oxydation und verschuldet eine Anhäufung von Zerfallsprodukten, die bekanntlich jede Muskeltätigkeit wesentlich beeinträchtigen. Mögen daher die Methylderivate des Xanthins auch bei einem gesunden Individuum den normalen Blutstrom auf einen hypernormalen Grad steigern, vermögen sie dennoch niemals eine so grosse Veränderung der Herztätigkeit hervorzurufen, weil der Sauerstoffmangel und die Anhäufung von Zerfallsprodukten im Myokard de norma entfallen und eine Steigerung der Ernährung über einen gewissen Grad niemals einen solchen Erfolg haben kann wie eine Verbesserung der verminderten Ernährung.

Indem wir hiemit die Beschreibung der exzitomotorischen Wirkung der Methylderivate des Xanthins beendigen, erübrigt uns noch die Besprechrung jener Versuche, in denen die exzitomotorische Wirkung wider Erwarten ausblieb.

Die Zahl dieser negativen Experimente war nicht eben klein, und wenn ich hier auch jene Versuche einreihe, in denen die exzitomotorische

Wirkung sehr unbeteutend war, so ist ihre Zahl auf ein Drittel aller Experimente abzuschätzen. Auffallend oft geschah dies bei solchen Versuchen, bei denen die mechanische Tätigkeit des isolierten Herzens sehr gut entwickelt war. Durch Vergleichung mit anderen Versuchen muss ich annehmen, dass gerade infolge der so vollkommenen Herztätigkeit die exzitomotorische Wirkung der Methylderivate des Xanthins nicht zur Geltung kommen konnte. Ich vermute, dass das Herz in solchen Fällen bereits unter dem Einflusse gewisser Reizmittel stand, die selbst schon das bewirkten, was die Methylderivate bewirken konnten, nämlich das Maximum der Herztätigkeit, das überhaupt unter den gegebenen Verhältnissen möglich war.

Ausser dem Kalcium, von dem bereits oben die Rede war, können auch noch andere Reizmittel die Reaktion des Myokards auf die Methylderivate unterdrücken u. zw. nicht bloss chemische, sondern auch physikalische (mechanische) Reizmittel. Es muss sich nicht allein um rein exzitative Reizmittel handeln, sondern diesselben können auch depressiver Natur sein. Ich machte z. B. die Beobachtung, dass auch eine Vermehrung des Kalium über die Norm (0.04 %), die ich manchmal behufs Verminderung der Akzeleration oder Beseitigung hartnäckigen Flimmerns nach HERING (1)) vornahm, die exzitomotorische Wirkung der untersuchten Praeparate mehr oder weniger einschränken kann.

Auch ein ungenügenüder Strom der Ernährungsflüssigkeit, infolge Gefässkonstriktion oder durch Druck des aufgeblähten linken Vorhofs (2), drückt die exzitomotorische Wirkung der Methylderivate stark herab. Auch hier liegt die Ursache dessen in einer chemischen Wirkung depressiver Art, bedingt durch die Produkte einer unvollständigen Oxydation, die sich in parenchymatösen Flüssigkeiten anhäufen.

Auch wenn das Herz offenkundig lädiert war (durch Aufblähung des linken Ventrikels, durch haemorrhagische Infiltration des Myokards, durch Luftembolie der Gefässe u. drgl.), liess es sich die exzitomotorische Wirkung der Methylderivate des Xanthins nicht in entsprechendem Grade erkennen. Oft war jenes die Reaktion des Myokards alterierende Agens gar nicht zu finden, aber die auffallende Arythmie und eventuell die tonischen Kontraktionen wiesen darauf hin, dass die Funktion des Myokards unter dem Einflusse irgend eines abnormalen Faktors leide. Manchmal stellte sich eine solche Arythmie plötzlich während eines Versuches ein und von diesem Momente an verschwand auch die exzitomotorische Wirkung der Methylderivate.

---

(1) HERING: Pflügers Archiv 1903. Bd. 99. S. 264.

(2) In einigen der letzten Versuche verhinderte ich die Aufblähung des Vorhofs dadurch, dass ich die Aurikel einschnitt.

Hohe Temperatur (um 40°) ist war an und für sich kein Reiz für das isolierte Herz, aber wir können doch sagen, dass alle mechanischen und chemischen Reizmittel, unter denen das isolierte Herz infolge unnatürlicher Verhältnisse leidet, bei hoher Temperatur umso mehr zur Geltung kommen, sodass die Methylderivate schon auf einen gereizten Muskel einwirken. Übrigens vermag die hohe Frequenz, die mit der hohen Temperatur einhergeht, schon auf physiologischem Wege jede exzitomotorische Wirkung zu verwischen (Seite 515).

Auch die gefässerweiternde Wirkung der Methylderivate war nicht unter allen Bedingungen konstant, sondern schwankte wesentlich nach der Zusammensetzung des Blutes und vielleicht auch nach dem Zustande und der Qualität des Herzpraeparates. Meistens war sie stark ausgesprochen, manchmal aber ganz unbedeutend, ja wenn ich bei Katzen und Kaninchen « das letzte Blut » verwendete (vergl. S. 507) entwickelte sich in einigen Fällen trotz der Einwirkung der Methylderivate des Xanthins statt der Dilatation die Vasokonstriktion (1).

Wahrscheinlich ist die vasokonstriktorische Wirkung « des letzten Blutes » ungleich stark je nach der Art der Ausblutung und dem Zustande des Tieres zu dieser Zeit.

Am tolerantesten gegen alle Schädlichkeiten erwies sich das Herz des Hundes, weniger jenes der Katze und am wenigsten das des Kaninchens. Obwohl beim letzteren neben der direkten Wirkung auf das Herz auch die Vasodilatation die Herzaktion kräftig unterstützen konnte, war die Steigerung der Herztätigkeit, wenn wir auf die Zahl der Versuche Rücksicht nehmen, doch weniger ausgeprägt als beim Hunde. Hartnäckiges Flimmern, Arythmie, grosse Akzeleration und spontane Vasokonstriktion störten die meisten Versuche am Kaninchenherzen und verwischten die exzitomotorische Wirkung der Methylderivate.

Für den Kliniker ist es interessant, dass die exzitomotorische Wirkung der Methylderivate des Xanthins selbst bei den Versuchen am isolierten Herzen nicht so konstant ist, dass sie niemals fehlen würde. Unsere Versuche geben eine deutliche Erklärung dafür, warum wir in der klinischen Praxis mit Fällen zusammentreffen, in denen die Herzaktion nach Theophyllin auffallend steigt, während sie sich in anderen Fällen nicht ändert oder eventuell sogar sinkt.

---

(1) Loeb und Braun beschreiben eine spontan steigende Vasokonstriction als eine natürliche Erscheinung eines jedes Versuches am isolierten Herzen. Loeb gibt an, dass bei einigen seiner Herzpraeparate der Strom binnen 10 Minuten sogar um 2/3 sank, wodurch das weitere Experiment unmöglich gemacht wurde. Ubrigens kommt im Tiere selbst, wenn es blutet, die vasokonstriktorische Wirkung zur Geltung. (E. Maixner : Uber den Einfluss der Blutung auf den Blutdruck und die Herzbewegung (böhmisch). Vestnik kral. ces. spolecnosti nauk v Praze 1902).

Beim Kranken kommt zwar weder das Calcium noch die hohe Temperatur noch ein anderes künstliches Reizmittel in Betracht, dafür gibt es hier aber andere, auf natürlichem Wege entstandene Reize. Es ist bekannt, dass bei hochgradiger Dekompensation eine starke Dilatation des Herzens, namentlich des rechten, auftritt, sodass aus diesem Grunde nicht einmal die Digitalis wirken kann; auch sind die organischen Veränderungen im Myokard und an den Klappen in dieser Hinsicht nicht ohne Bedeutung.

Wie beim Experiment so versagt die exzitomotorische Wirkung der Methylderivate des Xanthins auch in der klinischen Praxis, wenn es sich um ein Herz handelt, welches mit grosser Akzeleration oder Arythmie arbeitet. Die Methylderivate steigern noch die Akzeleration und die Arythmie und vermindern auf diese Weise die Herzfunktion. Daher ist in solchen Fällen eine Kombination derselben mit Digitalis besonders vorteilhaft.

Wiewohl die Herzwirkung des Koffeins, Theobromins und Theophyllins, wie unsere Experimente lehren, in den Gründzügen gemeinsam ist, ist dennoch ihre klinische Indikation nicht identisch.

Die Ursache dessen liegt in den Algemeinwirkungen dieser Praeparate, die in auffallendem Grade differieren.

Was das Koffein und Theobromin anbelangt, so hat schon Schroeder auf diese Unterschiede hingewiesen. Aus seinen Versuchen geht hervor, dass das Koffein zentrale Wirkungen besitzt, die dem Strychnin sehr ähnlich sind. Das Theobromin dagegen besitzt eine relativ schwache Zentralwirkung; so z. B. fehlt ihm die zentrale vasokonstriktorische Wirkung vollständig.

Das Theophyllin wiederum nähert sich nach Dreser, Pouchet und Thomas bezüglich der Zentralwirkung dem Koffein : in starken Dosen erzeugt es, analog diesem, eine Steigerung der Reflexerregbarkeit und universelle Krämpfe. Ich selbst beobachtete in einigen Fällen schon nach medizinalen Dosen von Theophyllin : Schlaflosigkeit, Aufregung und Tremor.

Ich will nicht in Abrede stellen, dass die zentrale Wirkung des Theophyllins, speziell was die Intensität betrifft, der Zentralwirkung des Koffeins nahesteht, in klinischer Beziehung aber steht das Theophyllin eher an der Seite des Theobromins. Beide Praeparate entbehren nämlich gegenüber dem Koffein die zentrale analeptische Wirkung. Dagegen lehrt die klinische Praxis, dass ihre Gesamtwirkung eher eine depressive ist. Sie verursachen leicht Unwohlsein und eventuell auch Erbrechen. Da sich die emetische Wirkung auch nach der subkutanen Injektion des Theophyllins eingestellt hat (1), ist es klar, dass dieselbe

nicht, wie viele glauben, reflektorisch aus dem Magen ausgelöst werde, sondern überhaupt, oder wenigstens zum Teil, zentralen Ursprunges sei. Diese depressive resp. emetische Wirkung des Theophyllins und Theobromins ist sehr individuell und richtet sich nach dem momentanen Zustand des Patienten. Manchmal stellt sich Übelkeit gleich nach der ersten Dosis (0.2 Theophyllin, 0.3 Theobromin) ein, manchmal oder bei anderen Kranken erst nach mehrtätigem Gebrauch.

Nach Koffein werden zwar ebenfalls Übelkeit, Erbrechen, Blässe des Gesichtes, schwacher und rascher Puls mit Schwächegefühl beschrieben, aber während diese Symptome beim Theobromin und Theophyllin schon nach Medizinalgaben eintreten, erscheinen sie bei Koffein erst nach toxischen Gaben.

Ohne Zweifel kann diese zentrale depressive Wirkung des Theobromins und Theophyllins in einem gegebenen, individuell oder durch die Krankheit disponierten, Falle die exzitomotorische Herzwirkung vollkommen verschleiern, da die Übelkeit bekanntlich stets mit einem allgemeinen Schwächegefühl verbunden ist und bei jedem Erbrechen die Stärke des Pulses objektiv sinkt.

Es steht ferner fest, dass diese depressive Nervenwirkung sich hauptsächlich dann einstellen muss, wenn sich das zentrale Nervensystem an und für sich schon im Zustande der Depression befindet, weswegen wir das Theobromin und Theophyllin niemals beim Kollaps und bei Synkope anwenden können. Obwohl die beiden genannten Praeparate eine stärkere exzitomotorische Wirkung auf das Herz besitzen als das Koffein, können sie dass Koffein doch nicht bei den erwähnten Zustanden ersetzen, das sie nicht bloss dessen zentrale analeptische Wirkung entbehren, sondern eher das Gegenteil bewirken und die Depression noch steigern.

Von diesen therapeutischen Unterschieden zwischen dem Koffein einerseits und dem Theobromin und Theophyllin andererseits habe ich mich selbst überzeugt, wenn ich unter dem Eindrucke der Kompensation einiger schwerer Vitien durch das Theophyllin dieses Medikament bei Kollaps, wie er sich bei entkräftenden Krankheiten (z. B. im moribunden Stadium bei Karzinom) einzustellen pflegt, verabreichte. Während das Koffein in solchen Fällen den Puls und die Kräfte des Patienten wenigstens für eine kurze Zeit hebt, steigerten Theobromin und Theophyllin die Schwäche noch mehr und erzeugten überdies noch Übelkeit.

Ich kann zwar nicht genau entscheiden, worin diese Unterschiede in der Nervenwirkung der Methylderivate des Xanthins beruhen, aber es

(1) V. PLAVEC : Die Heilkunde, 1906. Jg. X. H. 6.

hat den Anschein, dass neben anderen Faktoren eine ungleiche Reizung der Zentralen Vasomotoren hier eine wichtige Rolle spielt. Vielleicht ist auch die gefässerweiternde Wirkung des Theobromins und Theophyllins, die von einer zentralen Vasokonstriktion nicht gestört wird, im Kollaps von Nachteil. Wenigstens könnte man dies aus dem Erfolge der Nebennierenpraeparate, die in der jüngsten Zeit häufig zu analeptischen Zwecken verwendet werden, erschliessen, obzwar deren Wirkung rein vasokonstriktorisch ist.

Es muss tatsächlich überraschen, dass das Theobromin und Theophyllin trotz dieser depressiven Zentralwirkung in manchen Fällen von Herzfehlern (Arteriosklerose, Myokarditis) so gut wirken, dass sie weder durch Koffein noch durch Digitalis ersetzt werden. können. Wir können nicht anders als vermuten, dass entweder dieselbe depressive Wirkung (Vasodilatation ?) welche im Kollaps eher schadet, hier Nutzen bringt oder dass die depressive Wirkung durch die exzitomotorische und diuretische vollständig überkompensiert wird.

Übrigens sind nicht einmal die Kardiopathen ganz frei von der depressiven Wirkung und ein jeder Praktiker dürfte Fälle von Vitien kennen, in denen er das Theobromin oder noch eher das Theophyllin aussetzen musste, wenn auch dasselbe wenigstens im Anfang sehr gut gewirkt haben mochte.

Im grossem und ganzen können wir auf Grund unserer Experimente folgende Sätze aufstellen :

1/ Die exzitomotorische Wirkung auf die Herztätigkeit kommt nicht bloss dem Koffein, sondern auch dem Theobromin und Theophyllin zu. Ja, dieselbe ist bei diesen beiden Praeparaten, speziell beim Theophyllin, mehr entwickelt als beim Koffein.

2/ Diese exzitomotorische Wirkung ist aber sehr labil und kann durch verschiedene, gleichzeitig auf das Myokard einwirkende Einflüsse depressiven oder exzitativen Charakters leicht unterdrückt werden.

3/ Die exzitomotorische Wirkung der genannten Praeparate kommt namentlich dann zur Geltung, wenn die motorische Funktion des Herzens vermindert ist, die Vorräte an potentieller chemischer Energie aber noch nicht erschöpft sind. Wahrscheinlich handelt es sich um eine Steigerung der Oxydation.

4/ Die exzitomotorische Wirkung und die Koagulationswirkung scheinen von einander unabhängig zu sein. Wahrscheinlich richtet sich die eine wie die andere nach der Stellung der einzelnen Methylgruppen im Xanthinkern.

5/ Ausser der direkten exzitomotorischen Wirkung auf die Muskelsubstanz erhöhen alle drei Praeparate die Tätigkeit des isolierten Herzens bei Kaninchen und Katzen auch indirekt : durch Vasodilatation im

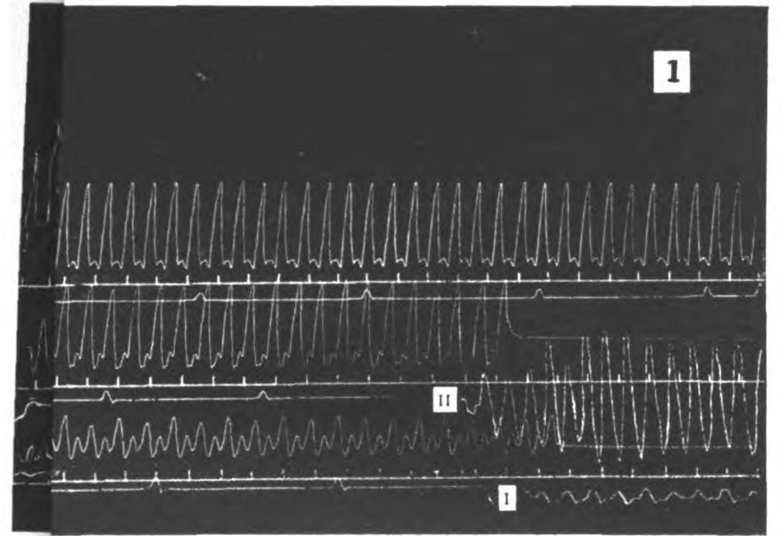
Myokard resp. durch Vermehrung des Blutstroms. Bei Hunden entfällt diese Wirkung. Dieselbe richtet sich überhaupt nach denselben Regeln wie die diuretische Wirkung und fehlt daher in der ärztlichen Praxis beim Koffein, während sie im Gegenteil beim Theobromin und noch mehr beim Theophyllin ausgeprägt ist.

6/ Dagegen bestehen aber offenbar Differenzen in der zentralen, oder vielleicht besser gesagt in der Allgemeinwirkung, welche das Koffein in der klinischen Indikation auf die eine und das Theobromin mit dem Theophyllin auf die andere Seite stellt. Koffein ist ein Analepticum im allgemeinen, Theobromin und Theophyllin sind Kardiaca und Diuretica im engeren Sinne des Wortes und ihre Indikation richtet sich nach der Art und dem Stadium der Krankheit, zum Teil auch nach der Individualität des Kranken. Die Allgemeinwirkung dieser beiden Praeparate ist eher eine depressive und daher sind sie bei Kollaps, trotz ihrer exzitomotorischen Wirkung auf das Herz, kontraindiziert.

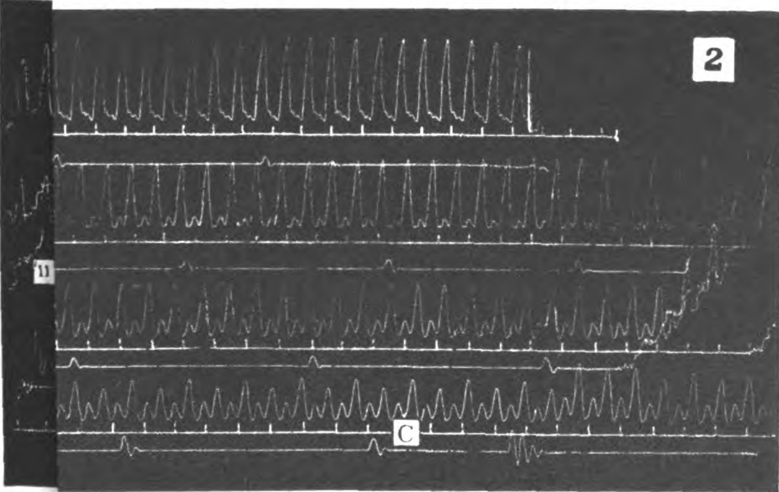
Der experimentelle Teil dieser Arbeit wurde im Institute für experimentelle Pathologie des Herrn k. k. Hofrates A. Spina durch die Munifizenz der Böhmischen Akademie für Wissenschaft und Kunst durchgeführt. Es ist mir eine angenehme Pflicht dem hochgeehrten Herrn Hofrat A. Spina, so auch der löblichen Akademie, meine Dankbarkeit öffentlich auszusprechen. Zu nicht minderem Dank bin ich auch meinem hochverehrten gew. Chef Prof. E. Maixner verpflichtet.

Versuch N° XXXVII. — 3 kg. schwerer Hund (26-1-1906)

Das Blut wurde mit Ringersche flüssigkeit (KCl 0.042 %, Na CO_3H 0.03 %, Cao) auf 1 1/2 Liter verdünnt. Zunächst wurde die Gesamtmenge bei 35° durch das Herz getrieben, um dasselbe ordentlich wiederzubeleben und das Flimmern zu beseitigen. Hierauf wurde sie von neuem oxydiert und in 6 gleiche Teile geteilt (je 3 für jeden der beiden folgenden Versuche). Der Strom wurde nach je 10 cm_3 registriert. Die Kurven sind von links nach rechts zu lesen. Auf beiden Abbildungen beginnt der Versuch unten. Der Zylinder mit der Schreibfläche sinkt nach Beendigung einer Umdrehung und Registrierung um eine Kurvenreihe tiefer, so dass der linke Rand einer Reihe die unmittelbare Fortsetzung des rechten Randes der tiefer stehenden Reihe ist. Die Registrierung der Herztätigkeit (bei normalem Blute) beginnt erst dann, wenn dieselbe stabil geworden ist. Während der isometrischen Registrierung ist auf dem isotonischen Kardiogramm eine Pause. Die Registrierung des Durchflusses und der isometrischen Tätigkeit besorgt dieselbe Feder (des Manometers) und deswegen bezitzen die betreffenden Kurven Kontinuität. Die Systole des Vorhofs und der Kammer wechseln mit einander ob. Die Zeit ist in Sekunden angegeben. Beide Kardiogramme sind um ein Drittel verkleinert.



Registrierung des normalen Blutes.
» » *Theophyllins.*
» » *Koffeins.*



Registrierung des normalen Blutes.
» » *Koffeins.*
» » *Theophyllins.*




U. HOLZER
BINDER

